

## تایپینگ مولکولی سویه‌های اشریشیاکلی مقاوم به فلوروکینولون جداسازی شده از بیماران تحت بیوپسی پروستات

### 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 به همراه 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 به دنبال آن به ترتیب 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. با وجود افزایش عفونت در میان بیماران کلونیزه با سویه *E. coli* ST131، تفاوت کمابیش معناداری در شیوع آن در بین دو گروه مشاهده شد ( $P=0/06$ ).

**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.

امیر حسن‌زاده<sup>۱</sup>

محمدرضا پورمند<sup>۲\*</sup>

شهرام گوران<sup>۳</sup>

حسن حسین‌زادگان<sup>۱</sup>

اصغر تنومند<sup>۱</sup>

غلامرضا پورمند<sup>۳</sup>

۱- گروه میکروبی‌شناسی، 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: ۸۹۵۴۹۱۰-۰۲۱

E-mail: mpoumand@tums.ac.ir

### مقدمه

(به‌ویژه مقاوم به فلوروکینولون) می‌باشد که به احتمال زیاد از رکتوم بیماران در زمان بیوپسی منشا می‌گیرد.<sup>۵،۶</sup> طی سال‌های اخیر نگرانی‌هایی از پیدایش کلونال گروپ اشریشیاکلی با سکونس تایپ ۱۳۱ (ST131) به‌صورت پاندمیک گزارش شده است که بیشتر اعضای این گروه، مقاوم به فلوروکینولون و برخی بتالاکتامازهای گسترده‌طیف هستند.<sup>۹</sup>

بررسی‌های فیلوژنتیک نشان می‌دهد که اشریشیاکلی تایپ ST131

طی سال‌های اخیر عفونت‌های پس از بیوپسی پروستات به موازات مقاومت باکتری‌ها به فلوروکینولون افزایش پیدا کرده است.<sup>۱،۲</sup> از طرف دیگر، باکتری‌های مقاوم به فلوروکینولون کلونیزه در رکتال، یک عامل خطر ایجاد عفونت در بیماران تحت بیوپسی پروستات هستند.<sup>۳-۶</sup> بیشترین عامل عفونت‌ها پس از بیوپسی پروستات، اشریشیاکلی

روی مئانه و سوزش ادرار پرسیده شد و متناسب با نوع عفونت، از خون و ادرار نمونه برداری 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، پپراسیلین-تازوباکتام، سفازولین، سفیم، سفنازیدیم، سیپروفلوکساسین، جنتامایسین، ایمپنم، لوفلوکساسین، فسفوماپسین، 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 فیلوژنتیکی گروه‌بندی شدند (جدول ۱). در این روش از چهار ژن *arpA*، *chuA*، *yjaA* و *TspE4.C2* برای تعیین گروه فیلوژنتیکی A، B1، B2، E، F، C و D ایزوله‌های *اشریشیاکلی* استفاده گردید.<sup>۱۴</sup> همه واکنش‌های Polymerase chain reaction (PCR) در حجم ۲۰  $\mu$ l شامل ۲  $\mu$ l بافر 10X (عرضه‌شده با Taq پلیمرز)، دو میکرومولار از هر dNTP، دو واحد از Taq پلیمرز، ۲  $\mu$ l 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 به مدت پنج دقیقه سپس ۳۲ سیکل متشکل از ۹۴ °C به مدت ۳۰ ثانیه، ۵۹ °C به مدت ۲۰ ثانیه (دمای آنیلینگ در ۵۷ °C برای ۲۰ ثانیه (گروه E) یا ۵۹ °C برای Quadruplex PCR و گروه C)، ۷۲ °C به مدت یک دقیقه و یک مرحله پایانی ۷۲ °C به مدت ۱۰ دقیقه بود. از سویه *اشریشیاکلی* K12 به‌عنوان کنترل منفی استفاده گردید. محصول PCR در ژل آگارز ۲٪ الکتروفورز گردید.

متعلق به گروه فیلوژنتیک B2 است و این گروه در مقایسه با دیگر گروه‌های فیلوژنتیکی واجد فاکتورهای ویروانس بیشتری است و دیگر اینکه می‌تواند با ظرفیت بالایی در روده کلونیزه شود.<sup>۱۱</sup> پاتوژن *E. coli* ST131 عامل مهم عفونت‌های خارج روده‌ای شامل سپسیس، مننژیت 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.<sup>۱۲</sup> 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 (۹۴-۰۱-۲۷-۲۸۸۴۸) 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  $\mu$ g/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  $\mu$ g/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

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

اندازه (bp)	توالی پرایمر	هدف	شناسه پرایمر	واکنش زنجیره‌ای پلیمرز
۲۸۸	5'-ATGGTACCGGACGAACCAAC-3'	<i>chuA</i>	chuA.1b	<b>Quadruplex</b>
	5'-TGCCGCCAGTACCAAAGACA-3'		chuA.2	
۲۱۱	5'-CAAACGTGAAGTGCAGGAG-3'	<i>yjaA</i>	YjaA.1b	
	5'-AATGCGTTCTCAACCTGTG-3'		YjaA.2b	
۱۵۲	5'-CACTATTCGTAAGGTCATCC-3'	TspE4.C2	TspE4C2.1b	
	5'-AGTTTATCGTGC GGTCGC-3'		TspE4C2.2b	
۴۰۰	5'-AACGCTATTCGCCAGCTTGC-3'	<i>arpA</i>	AceK.f	
	5'-TCTCCCCATACCGTACGCTA-3'		ArpA1.r	
۳۰۱	5'-GATTCCATCTGTCAAAAATATGCC-3'	<i>arpA</i>	ArpAgpE.f	گروه E
	5'-GAAAAGAAAAAGAAATCCCAAGAG-3'		ArpAgpE.r	
۲۱۹	5'-AGTTTTATGCCCAGTGCGAG-3'	<i>trpA</i>	trpAgpC.1	گروه C
	5'-TCTGCGCCGTCACGCC-3'		trpAgpC.2	
	5'-CGGCGATAAAGACATCTTCAC-3'			
۴۸۹	5'-GCAACGCGGCCTGGCGGAAG-3'	<i>trpA</i>	trpBA.f	کنترل داخلی
			trpBA.r	

جدول ۲: تفسیر آزمایش Quadruplex PCR و چگونگی گروه‌بندی ایزوله‌ها

گروه	TspE4.C2 (152bp)	<i>yjaA</i> (211bp)	<i>chuA</i> (288bp)	<i>arpA</i> (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 پلیمرز برای گروه‌های C و E گذاشته می‌شود که در صورت منفی بودن این آزمایش واکنش

زنجیره‌ای پلیمرز برای گروه E و C، ایزوله‌ها متعلق به گروه A و D خواهند بود و بر عکس<sup>۱۴</sup> برای تعیین ST131 از روش سریع بر پایه PCR Single nucleotide polymorphisms (SNPs) 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

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. به طوری که 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 /شریشیاکلی 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 به دست آمده از آنالیز داده‌ها، با وجود توزیع بالای گروه B2 در دو گروه ایزوله‌های کلونیزه و بالینی، تفاوتی در شیوع آن در بین دو گروه مشاهده نشد (به ترتیب ۳۶٪ از ۵۴٪) در مقابل ۱۳٪ از ۱۶٪ (۸۱٪،  $P=0/29$ ).

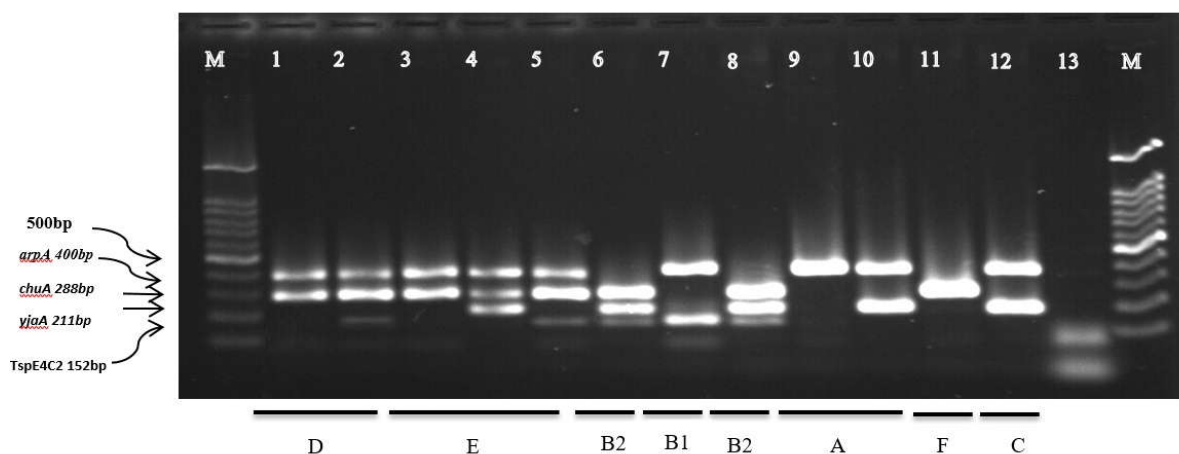
برای ایزوله‌های متعلق به گروه B2، وضعیت ST131 توسط روش SNP-PCR با توجه به پلی مورفیسم تکنوکلوئیدی در ژن‌های *mdh* و *gyrB* مشخص گردید. با توجه به نتایج به دست آمده، شیوع ST131 در بین ایزوله‌های بالینی و کلونیزه بالا بود. به طوری که ۵۴٪ ایزوله‌های کلونیزه و ۸۱٪ ایزوله‌های بالینی دارای سکانس ۱۳۱ بودند (جدول ۳).

واکنش‌های PCR در حجم ۲۵  $\mu$ l شامل ۱۲  $\mu$ l ماستر میکس، ۲  $\mu$ l از هر پرایمر، ۲  $\mu$ l از DNA و ۷  $\mu$ l آب دیونیزه انجام شد. برنامه واکنش PCR شامل یک حرارت اولیه  $95^{\circ}\text{C}$  به مدت ۱۰ دقیقه سپس ۳۲ سیکل متشکل از  $94^{\circ}\text{C}$  به مدت یک دقیقه،  $65^{\circ}\text{C}$  به مدت یک دقیقه،  $72^{\circ}\text{C}$  به مدت یک دقیقه و یک مرحله پایانی  $72^{\circ}\text{C}$  به مدت ۱۰ دقیقه بود. از سویه /شریشیاکلی K12 به عنوان کنترل منفی استفاده گردید. محصول PCR در ژل آگارز ۱٪/۵ الکتروفورز گردید. برای شناسایی ساب کلون‌های ST131 (H30 and H30-RX131) از روشی بر پایه PCR استفاده شد.<sup>۱۰</sup>

از SPSS software, version 21 (IBM SPSS, Armonk, NY, USA) برای آنالیز نتایج به دست آمده استفاده شد. آزمون‌های آماری مورد استفاده جهت آنالیز داده‌ها، آنالیز تک متغیره با استفاده از Pearson's chi-squared test بود. همچنین با استفاده از Logistic regression analysis محاسبه گردید و  $P<0/05$  از نظر آماری معنادار در نظر گرفته شد.

## یافته‌ها

با استفاده از روش Quadraplex PCR، ایزوله‌های /شریشیاکلی کلونیزه و بالینی در هفت گروه فیلوژنیک گروه بندی شدند (شکل ۱).



شکل ۱: نمونه‌ای از الکتروفورز ژل آگارز ۲٪ جهت نمایش الگوی Quadraplex PCR، روش جدید گروه بندی کلرمونت

نشان دادند و تفاوتی در شیوع ساب‌کلون H30-RX ST131 در بین ایزوله‌های کلونیزه و بالینی مشاهده نشد (به ترتیب چهار از ۲۹ (۰/۱۴) در مقابل چهار از ۱۱۳ (۰/۳۱)،  $P=0/۲۴$ ).

الگوی مقاومت ضد میکروبی E. coli FQ-R جدا شده از رکتوم و بالینی در جدول ۴ ارایه شده است. کمابیش همه E. coli FQ-R در هر دو نوع گروه، Minimum inhibitory concentration (MIC) بالای ۳۲ را به سیپروفلوکساسین نشان دادند. اگر چه مقاومت بالای ایزوله‌های رکتال به آمپی‌سیلین (۰/۱۰۰)، کوتریموکسازول (۰/۸۰) و آموکسی‌سیلین-کلاوولانیک اسید (۰/۵۷) مشاهده شد، مقاومت به آمیکاسین (۰/۷)، فسفومایسین (۰/۵/۵) و ایمپنم (۰/۰) در سطوح بسیار پایین باقی ماند. الگوی حساسیت ضد میکروبی ایزوله‌های بالینی به‌طور تقریبی با ایزوله‌هایی که از رکتوم جدا شده‌اند یکسان بودند (جدول ۴). به‌طور کلی، بیشتر ایزوله‌های اشریشیا کلی 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 فیلوژنتیکی را در بین ایزوله‌های اشریشیا کلی به خود اختصاص می‌دهد.<sup>۱۳، ۱۶، ۱۷</sup> این در حالی است که در مطالعه‌ای در پاکستان که روی اشریشیا کلی جدا شده از زخم صورت گرفته، بیشترین گروه متعلق به گروه فیلوژنتیکی A و سپس B2 بود.<sup>۱۸</sup> در ایران Alizade و همکاران، بر روی اشریشیا کلی جدا شده از اسهال و UTI مطالعه‌ای انجام دادند که بر اساس آن بیشترین گروه فیلوژنتیکی متعلق به گروه A و کمترین متعلق به گروه B2 بود.<sup>۱۹</sup> در پژوهش کنونی، ۸۱٪ 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.<sup>۱۷</sup> Williamson و همکاران و Liss و همکاران، مطالعاتی در مورد گروه‌بندی ایزوله‌های اشریشیا کلی کلونیزه مقاوم به سیپروفلوکساسین در افراد تحت بیوپسی پروستات انجام دادند. بر اساس یافته‌های این پژوهشگران، بیشترین گروه فیلوژنتیکی متعلق به گروه B2 و سپس گروه D و کمترین گروه مربوط به B1 بود.<sup>۲۰، ۲۱</sup> پژوهش کنونی با توجه به روش جدید

جدول ۳: توزیع فیلوژنتیکی ایزوله‌های اشریشیا کلی کلونیزه و بالینی

گروه فیلوژنتیکی یا نوع توالی	تعداد ۵۴ نفر (% کلونیزه)	تعداد ۱۶ نفر (% بالینی)
A	۶ (۱۱/۱)	۱ (۶/۲)
B1	۲ (۳/۷)	۰
B2	۳۶ (۶۶/۶)	۱۳ (۸۱/۳)
E	۵ (۹/۲)	۰
F	۱ (۱/۹)	۰
C	۱ (۱/۹)	۲ (۱۲/۵)
D	۳	۰
ST131	۲۹ (۵۳/۷)	۱۳ (۸۱/۳)

جدول ۴: الگوی حساسیت ضد میکروبی سویه‌های بالینی و کلونیزه مقاوم به سیپروفلوکساسین جدا شده از بیماران تحت بیوپسی پروستات به روش E-test

آنتی‌بیوتیک	ایزوله‌های رکتال تعداد: ۷۰ (درصد)	ایزوله‌های بالینی تعداد: ۱۷ (درصد)
آمپی‌سیلین	۰	۰
لوفلوکساسین	۰	۱ (۵/۹)
کوتریموکسازول	۱۴ (۲۰)	۳ (۱۷/۶)
آموکسی‌سیلین-کلاوولانیک اسید	۳۰ (۴۲/۹)	۴ (۲۳/۵)
سفازولین	۳۳ (۴۷/۱)	۷ (۴۱/۲)
سفتازیدیم	۴۰ (۵۷/۱)	۹ (۵۲/۹)
سپتیم	۴۶ (۶۵/۷)	۱۱ (۶۴/۷)
جتتامیسین	۵۴ (۷۷/۱)	۱۱ (۶۴/۷)
پیراسیلین-تازوباکتام	۶۰ (۸۵/۲)	۱۴ (۸۲/۴)
نیتروفورانتوئین	۶۵ (۹۲/۹)	۱۶ (۹۴/۱)
آمیکاسین	۶۵ (۹۲/۹)	۱۷ (۱۰۰)
فسفومایسین	۶۷ (۹۵/۷)	۱۷ (۱۰۰)
ایمی‌پنم	۷۰ (۱۰۰)	۱۷ (۱۰۰)
آمپی‌سیلین	۰	۰

اما با وجود 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]. به‌طور کلی همه ایزوله‌های E. coli ST131، ساب‌کلون H30ST131 را

مقاوم به فلوروکینولون و ۸۱٪ عفونت‌های پس از بیوپسی پروستات دارای سکانس ۱۳۱ بودند. در مطالعه کنونی، با وجود افزایش میزان عفونت در بین بیماران کلونیزه با ایزوله‌های *اشریشیاکلی* مقاوم به فلوروکینولون با سکانس ۱۳۱، 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. به طوری که ۵۰٪ در انگلستان، ۳۵٪ در استرالیا، ۳۳-۲۵٪ در ژاپن و کره و در یک مطالعه‌ای که روی افراد سفر کرده به کشورهای پاکستان و هندوستان صورت گرفته، ۶۱٪ 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.

سپاسگزار می‌باشم: 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 ۱۳۹۵ و طرح تحقیقاتی به کد ۲۸۸۴۸ می‌باشد که با حمایت دانشگاه علوم پزشکی تهران اجرا شده است.

کلمونت، نتایج مطالعات بالا را تایید کرد با این تفاوت که گروه A بیشترین گروه فیلوژنتیکی را پس از گروه B2 به خود اختصاص داد و کمترین گروه فیلوژنتیکی متعلق به گروه F بود. این تفاوت‌ها در توزیع گروه فیلوژنتیک در میان گونه‌های جمعیت متمایز جغرافیایی در مطالعات مختلف ممکن است به دلیل 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.<sup>۹</sup> مطالعات متعددی روی شیوع ST131 در کشورهای مختلف انجام شده است. Williamson و همکاران، شیوع ST131 را در ایزوله‌های مقاوم به سیپروفلوکساسین، ۴۲٪ گزارش کردند. به طوری که شیوع آن در عفونت‌های پس از بیوپسی پروستات بیشتر از عفونت‌های دیگر بود.<sup>۱۱</sup> Liss و همکاران در دو مطالعه متفاوت نشان دادند که ۷۰٪ *اشریشیاکلی* کلونیزه مقاوم به فلوروکینولون دارای سکانس ۱۳۱ هستند. این دو مطالعه نشان داد که بیشتر عفونت‌های پس از بیوپسی پروستات در بیماران کلونیزه با *اشریشیاکلی* مقاوم به فلوروکینولون با سکانس ۱۳۱ اتفاق می‌افتد.<sup>۱۰</sup> پژوهش کنونی، یافته‌های Liss و همکاران را تایید کرد، به طوری که ۵۴٪ ایزوله‌های کلونیزه

## References

- 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.
- 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.
- Liss MA, Chang A, Santos R, Nakama-Peoples 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.
- 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.
- 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.
- 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  $\beta$ -lactamase-producing rectal flora in Hong Kong Chinese men undergoing transrectal ultrasound-guided prostate biopsy. *Urology* 2015;85(1):15-21.
- 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.
- 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.
- Rogers BA, Sidjabat HE, Paterson DL. *Escherichia coli* O25b-ST131: a pandemic, multiresistant, community-associated strain. *J Antimicrob Chemother* 2011;66(1):1-14.
- 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.
- 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.

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- $\beta$ -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.

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

Amir Hasanzadeh Ph.D.<sup>1,2</sup>  
Mohammad Reza Pourmand  
Ph.D.<sup>2\*</sup>  
Shahram Gooran M.D.<sup>3</sup>  
Hasan Hosainzadegan Ph.D.<sup>1</sup>  
Asghar Tanomand Ph.D.<sup>1</sup>  
Gholamreza Pourmand M.D.<sup>3</sup>

1- Department of Microbiology,  
Maragheh University of Medical  
Sciences, Maragheh, Iran.

2- Department of Pathobiology,  
School of Public Health and Bio-  
technology Research Center, Teh-  
ran University of Medical Sciences,  
Tehran, Iran.

3- Urology Research Center, Teh-  
ran 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.