دسته بندی فیلوژنتیکی جدایه‌های *اشریشیاکلی* به‌دست آمده از موارد عفونت ادراری شهرستان بجنورد به روش جدید گروه‌بندی کلرمونت

حمیدرضا فرزین[۱]، مجید جمشیدیان مجاور*[۱]، محدثه امیری[۲]، کاوه اکبرزاده شعرباف[۳]، سیدالیاس طباطبایی زاده[۱]

۱- استادیار، مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شعبه مشهد، مشهد، ایران.
۲- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد رشته باکتری‌شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران.
۳- استادیار، گروه مهندسی کامپیوتر، دانشگاه بین‌المللی امام رضا (ع)، مشهد، ایران.

دریافت مقاله: ۱۸ اسفند ۱۴۰۰، بازنگری: ۷ اردیبهشت ۱۴۰۱، پذیرش نهایی: ۳۱ اردیبهشت ۱۴۰۱

چکیده

عفونت‌های ادراری (UTI) یکی بارزترین عفونت‌ها در بیماران مراجعه کننده به بیمارستان و همچنین *اشریشیاکلی* شایع‌ترین پاتوژن و همچنین مسئول ۸۵-۵۰ درصد عفونت‌های ادراری در جوامع و بیمارستان‌ها است. نوترکیبی‌ها، در جمعیت باکتری *اشریشیاکلی* منجر به تنوع در میان آنها و شکل‌گیری گروه‌های فیلوژنتیک می‌گردد. با تعیین هویت اجدادی سویه‌ها و گروهی که باکتری به آن تعلق دارد، می‌توان به ماهیت بیماری‌زا یا فلور طبیعی یا پاتوژن بودن باکتری پی برد. در این مطالعه در بازه‌ی زمانی ۴ ماهه تعداد ۵۰ نمونه از کشت‌های مثبت دارای عفونت ادراری ارجاع شده به آزمایشگاه مستقر در بیمارستان ثامن‌الائمه شهرستان بجنورد مورد بررسی قرار گرفت. پلیت‌های دارای باکتری که در محیط کشت مک‌کانکی آگار دارای کلنی‌های صورتی رنگ بودند به‌عنوان جدایه‌های مشکوک به *اشریشیاکلی* انتخاب شدند و به‌وسیله آزمایش‌های بیوشیمیایی (IMVIC) تأیید جدایه‌ها صورت پذیرفت. در این مطالعه از روش PCR و پرایمرهای طراحی شده از چهار ژن *yjaA*، *chuA*، *arpA* و TspE4.C2 جهت تعیین گروه‌های فیلوژنتیکی C، F، E، B2، B1، A و D استفاده گردید. در این مطالعه میزان فراوانی گروه‌های فیلوژنتیکی به ترتیب B2 (۲۴ درصد)، F (۲۲ درصد)، B1 (۱۸ درصد)، D (۱۶ درصد)، A (۸ درصد)، C (۶ درصد) و E (۶ درصد) مشاهده گردید. تمامی جدایه‌های مورد مطالعه با کمک روش جدید دسته‌بندی فیلوژنتیکی کلرمونت قابل دسته‌بندی بودند. در میان جدایه‌های مورد مطالعه طیف گوناگونی از گروه‌های فیلوژنتیکی مشاهده گردید.

واژه‌های کلیدی: *اشریشیاکلی اوروپاتوژنیک، عفونت مجاری ادراری، گروه‌بندی نیو کلرمونت*

* پست الکترونیک نویسنده مسئول مکاتبه: m.jamshidian@rvsri.ac.ir

مقدمه

عفونت ادراری یکی از شایع‌ترین عفونت‌های رایج در میان بیماری‌های عفونی با منشأ باکتریایی است. عفونت دستگاه ادراری به حضور پاتوژن‌های میکروبی درون دستگاه ادراری اطلاق می‌شود و یکی از شایع‌ترین عفونت‌ها در بیماران سرپایی و بستری در بیمارستان می‌باشد (۱). باکتری‌های *اشریشیاکلی*، *پروتئوس میرابیلیس*، *انتروکوکوس فکالیس* و *استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس* مهم‌ترین عوامل ایجاد کننده‌ی عفونت ادراری می‌باشند. این عفونت غالباً در بخش اعظمی از بیماران سرپایی و بیماران بستری در بیمارستان مشاهده می‌گردد. از عوامل مؤثر در این عفونت می‌توان به جنسیت افراد و سن افراد اشاره نمود غالباً کودکان در رده‌های سنی گوناگون بیشتر به این عفونت دچار می‌گردند (۲، ۳). باکتری *اشریشیاکلی*، شایع‌ترین عامل عفونت مجاری ادراری شناخته شده است . این ارگانیسم همچنین عامل ۹۰ درصد تمامی عفونت‌های ادراری شناخته شده در بیماران مراجعه کننده به مراکز درمانی است (۴، ۵).

فیلوتایپینگ و آنالیز فیلوژنی جدایه‌های *اشریشیاکلی* روشی جهت تعیین سیر تکاملی و قابلیت بیماری‌زایی این باکتری است . بررسی‌های انجام شده بر روی سیر تکاملی و تغییرات ژنتیکی *اشریشیاکلی* نشان می‌دهد این باکتری از نظر ساختار ژنتیکی به میزان کمی در معرض تغییرات ناشی از نوترکیبی ژنتیکی است این ویژگی *اشریشیاکلی* باعث شده است که در بررسی پلی‌مورفیسم داخل گونه‌ای کاربرد فراوان پیدا کند (۶) .برخی از محققین اعتقاد دارند که سویه‌های بیماری‌زای این باکتری از سویه‌های فرصت‌طلب منشأ گرفته‌اند. بدین معنی که این باکتری‌ها به دنبال موتاسیون و یا با اکتساب اپرن‌های حدت کروموزمی و یا پلاسمیدی قابلیت بیماری‌زائی را به‌دست می‌آورند، که نتیجه آن حضور کلون‌های مختلف بیماری‌زا در جمعیت‌های *اشریشیاکلی* است (۶، ۷).

در سال ۲۰۰۰ کلرمونت و همکاران یک آزمایش PCR سه‌گانه جهت شناسایی ژن‌های *chuA, yjaA,* TspE4.C2 جهت دسته‌بندی فیلوژنتیکی باکتری *اشریشیاکلی* ابداع نمودند که بر این اساس باکتری *اشریشیاکلی* را می‌توان در یکی از گروه‌های A, B1, B2, D قرار داد (۸). پس از کشف این روش در سال ۲۰۰۰، به شکل گسترده‌ای به دلیل آسانی و سرعتش مورد استفاده قرار گرفت. این روش بر پایه‌ی PCR تریپلکس بوده که در آن دو ژن *chuA* (ژن کد کننده‌ی گیرنده‌ی آهن خارج غشایی) و *yjaA*، (کد کننده‌ی یک پروتئین شناخته نشده) و یک قطعه‌ی DNA که اخیراً به‌عنوان بخشی از یک ژن لیپاز استراز شناخته می‌شود، ردیابی می‌شود (۸). در این روش دسته‌بندی ۸۰ تا ۸۵ درصد سویه‌ها در میزبان‌ها و زیستگاه‌های گوناگون به‌طور صحیح دسته‌بندی می‌شدند اما کسری از سویه‌ها به طور اشتباه اختصاصی تشخیص داده می‌شدند. در سال ۲۰۱۳ کلرمونت و همکارانش یک ژن هدف اضافی به نام *arpA* را به سه ژن قبلی اضافه کردند (۹). در طی اضافه شدن این ژن جدایه‌های *اشریشیاکلی* در یکی ازگروه‌های A, ،F ،B2,C ,D ,E B1 قرار می‌گیرند. تجزیه و تحلیل فیلوژنتیک در سراسر جهان نشان می‌دهد که سویه‌های خارج روده‌ای *اشریشیاکلی* بیشتر در گروه‌های B2 و مقدار کمتری در گروه D قرار می‌گیرند. سویه‌ی کامنسال این باکتری طبق این طبقه‌بندی در گروه‌های B1 و A قرار می‌گیرند (۹، ۱۰).

هدف از انجام این پژوهش بررسی میزان پراکندگی گروه‌های فیلوژنتیکی و شناسایی گروه‌های فیلوژنتیکی جدایه‌های *اشریشیاکلی* به‌دست آمده از موارد عفونت ادراری شهرستان بجنورد به روش جدید دسته‌بندی کلرمونت می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه در بازه زمانی ۴ ماهه ۵۰ نمونه از کشت‌های مثبت دارای عفونت ادراری (پلیت‌های دارای باکتری که در محیط کشت محیط مک‌کانکی آگار (مرک-آلمان) دارای کلنی‌های صورتی رنگ بودند) ارجاع شده به آزمایشگاه مستقر در بیمارستان ثامن‌الائمه شهرستان بجنورد با رضایت بیماران فوق مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش‌های بیوشیمیایی جهت تأیید جدایه‌ها (تست‌های TSI و سیترات، متیل رد، ووگس-پروسکوئر و سیترات (IMViC) (مرک-آلمان)) صورت پذیرفت.

استخراج DNA: برای استخراج DNA در این مطالعه از روش جوشاندن استفاده شد. در این روش ابتدا باکتری را روی محیط لوریا برتانی آگار (مرک-آلمان) کشت داده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از اتمام زمان انکوباسیون برای استخراج DNA از تک کلنی‌های به‌دست آمده استفاده گردید (۱۱). ابتدا به میزان ۳۵۰ ماکرولیتر آب مقطر استریل به درون میکروتیوب‌های استریل انتقال داده شد و سپس یک کلنی در آن حل گردید. میکروتیوب‌ها در دستگاه هیتینگ بلاک (اپندورف-آلمان) در دمای ۹۸ درجه سانتی‌گراد به مدت زمان ۱۱ دقیقه قرار داده شدند. سپس به مدت ۵ دقیقه در فریزر در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد میکروتیوب‌ها سرد گردید و به مدت ۱۰ ثانیه میکروتیوپ‌ها ورتکس شدند و در نهایت میکروتیوب‌ها به مدت ۲ دقیقه، با سرعت ۱۲ هزار دور سانترفیوژ (اپندورف-آلمان) شدند. میکروتیوب‌ها به آرامی از دستگاه خارج شدند و ۲۵۰ ماکرو لیتر از مایع رویی آنها به داخل میکروتیوب‌های استریل جدیدی منتقل گردید (۱۱).

روش PCR جهت ردیابی ژن‌های مورد نیاز جهت گروه‌بندی فیلوژنتیکی: در این مطالعه از پرایمرهای طراحی شده از چهار ژن *yjaA*، *chuA*، *arpA* و TspE4.C2 جهت تعیین گروه‌های فیلوژنتیکی C، F، E، B2، B1، A و D استفاده گردید. تمامی واکنش‌های مربوط به این پژوهش در حجم ۲۰ میکرولیتر که شامل ۱۰ میکرولیتر مستر میکس آماده (BIOFACT، کره)، ۰/۲ میکرولیتر از هر یک از پرایمرها (ژن فن‌آوران، ایران)، DNA باکتری‌های مورد نظر ۳ میکرولیتر و آب مقطر استریل تا حجم کلی واکنش اضافه گردید. تبدیل روش جدید به یک PCR چهارتایی با افزودن یک ژن هدف دیگر به نام *arpA* که دو هدف را دنبال می‌کند: ۱) این ژن به‌عنوان یک کنترل داخلی در واکنش عمل خواهد کرد چرا که با افزودنش هر هشت فیلوگروه مورد مطالعه حداقل یک محصول PCR تولید خواهند کرد. ۲) بررسی این ژن جدید کمک خواهد کرد تا سویه‌هایی که متعلق به فیلوگروه F بوده و قبلاً به‌طور اشتباه در فیلوگروه D دسته‌بندی شده‌اند مشخص شوند، چرا که ژن *arpA* در تمام فیلوگروه‌ها به جز B_2 و F حضور دارد. برای تشخیص هرکدام از دو فیلوگروه E و C یک پرایمر اختصاصی طراحی شد (۸).

پس از طی برنامه‌ی زمانی مورد نظر محصولات PCR بر روی ژل آگارز ۱ درصد الکتروفورز گردیدند و نتایج با ژل داک (Optigo ISOGENE) مورد بررسی قرار گرفت.

جدول ۱- توالی پرایمرها و اندازه محصول واکنش زنجیره‌ای پلیمراز مورد استفاده در این مطالعه

پرایمر	ژن هدف	توالی پرایمر	اندازه محصول (bp)	منبع
chuA.1b chuA.2	*chuA*	ATGGTACCGGACGAACCAAC TGCCGCCACTACCAAAGACA	۲۸۸	۱۸
yjaA.1b yjaA.2b	*yjaA*	CAAACGTGAAGTGTCAGGAG AATGCGTTCCTCAACCTGTG	۲۱۱	۱۱
TspE4C2.1b TspE4C2.2b	TspE4.C2	CACTATTCGTAAGGTCATCC AGTTTATCGCTGCGGGTCGC	۱۵۲	۱۲
AceK.f ArpA1.r	*arpA*	AACGCTATTCGCCAGCTTGC TCTCCCCATACCGTACGCTA	۳۰۱	۱۹

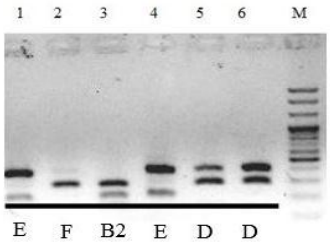
الکتروفورز محصولات PCR: برای شناسایی سویه‌هایی که از نظر ژن‌ها و توالی‌های مورد نظر مثبت بودند، تمامی محصولات PCR بر روی ژل آگارز ۱ درصد به همراه رنگ گرین ویور، الکتروفورزگردیدند. بدین منظور ابتدا بافر TBE تهیه شد، و پس از ساخت ژل آگارز، نمونه‌ها در آن الکتروفورز شدند.

نتایج گروه‌بندی فیلوژنتیکی: نتایج به‌دست آمده از این پژوهش طبق جدول ۳ تفسیر گردید. بر اساس نتایج به‌دست آمده بیشترین میزان فراوانی جدایه‌ها در گروه فیلوژنتیکی B2 بوده (۲۴ درصد) و گروه‌های فیلوژنتیکی F (۲۲ درصد)، B1 (۱۸ درصد)،D (۱۶ درصد)، A (۸ درصد)، C (۶ درصد) و E (۶ درصد) بعد از آن قرار گرفتند.

نتایج

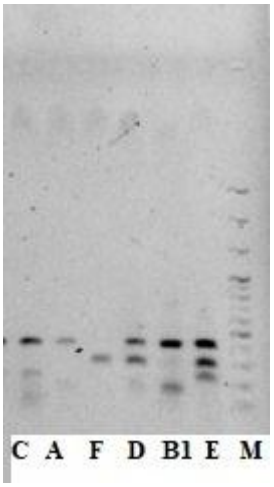
جدول ۳- تفسیر گروه‌بندی جدید فیلوژنتیکی (۲۰)

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	+	-	+	+



شکل ۱ -گروه‌بندی فیلوژنتیکی جدایه‌های مورد مطالعه

M: lad 100bp (BIOFACT، کره)



شکل ۲- گروه‌بندی فیلوژنتیکی جدایه‌های مورد مطالعه

M: lad 100bp(BIOFACT، کره)

بحث و نتیجه‌گیری

عفونت ادراری (UTI) یکی از شایع‌ترین عفونت‌های باکتریایی است. این بیماری توسط عوامل مختلف باکتریایی ایجاد می‌شود اما شایع‌ترین عامل *اشرشیاکلی* است (۱۲). عفونت ادراری توسط بسیاری از عوامل بیماری‌زای باکتریایی (گرم‌منفی و گرم‌مثبت) و قارچی در دستگاه ادراری ایجاد می‌گردد (۱۳). در حال حاضر، مدیریت بالینی UTI به دلیل افزایش عفونت‌های ناشی از سویه‌های *E.coli* که در برابر عوامل ضد میکروبی متداول مقاومت ایجاد کرده‌اند به یک مشکل عمده جهانی تبدیل شده است (۱۴). روش PCR سه‌گانه قبلی (روش کلرمونت) همه سویه‌های *E. coli* را به چهار گروه فیلوژنتیکی، A، B1، B2 و D تقسیم می‌کند (۱۵). تجزیه و تحلیل فیلوژنتیک نشان داده است که سویه‌های باکتری خارج روده‌ای *اشریشیاکلی* معمولاً به گروه B2 و تعداد کمی به گروه D تعلق دارند (۱۵).

ایران‌پور و همکاران در سال ۲۰۱۵ در بوشهر به بررسی گروه‌بندی فیلوژنتیکی در جدایه‌های *اشریشیاکلی* به‌دست آمده از بیماران مبتلا به عفونت ادراری پرداختند. در مطالعه‌ی ایران‌پور تعداد ۱۴۰ جدایه مورد بررسی قرار گرفت و به روش جدید کلرمونت دسته‌بندی شدند. بر اساس نتایج به‌دست آمده از مطالعه ایران‌پور و همکاران بیشترین پراکندگی گروه‌های فیلوژنتیکی مربوط به گروه B2 (۳۹/۳ درصد) بوده و گروه‌های فیلوژنتیکی E (۹/۳ درصد)، C (۶/۴ درصد)، B1 (۵ درصد) و گروه‌های F و D (۲/۹ درصد) بعد از آن قرار گرفتند (۱۶).

اودوکی و همکاران در سال ۲۰۲۰ در اوگاندا به بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی و همچنین مقایسه دو روش گروه‌بندی فیلوژنتیکی در جدایه‌های *اشریشیاکلی* به‌دست آمده از موارد عفونت ادراری به روش‌های کلرمونت و روش جدید کلرمونت پرداختند. در بین ۳۱ جدایه دارای مقاومت آنتی‌بیوتیکی بیشترین پراکندگی گروه‌های فیلوژنتیکی مطالعه اودوکی و همکاران مربوط به گروه A (۱۶/۱ درصد) و گروه‌های B2 (۱۲/۹ درصد)، B1 (۹/۷ درصد)، D (۶/۶ درصد) و E (۱/۱ درصد) به‌ترتیب بعد از گروه A قرار گرفتند (۱۷).

برومند و همکاران در سال ۲۰۱۷ در یاسوج به بررسی ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی و همچنین بررسی دسته‌بندی گروه‌های فیلوژنتیکی به روش جدید کلرمونت در جدایه‌های *اشریشیاکلی* به‌دست

آمده از ۱۲۹ بیمار مبتلا به عفونت ادراری پرداختند. نتایج به‌دست آمده از پژوهش برومند نشان داد که بیشترین میزان پراکندگی گروه‌های فیلوژنتیکی مربوط به گروه فیلوژنتیکی B2 (۳۶/۴ درصد) بوده و گروه‌های فیلوژنتیکی C (۱۳/۲ درصد) گروه D (۹/۳ درصد)، گروه A (۳/۱ درصد) بعد از آن قرار گرفتند (۱۸).

با توجه به گروه‌بندی جدید کلرمونت می‌توان گفت که این تکنیک می‌تواند با جزئیات و دقت و حساسیت بیشتری گروه‌بندی ایزوله‌های *اشریشیاکلی* را تفکیک سازد و ایزوله به‌طور دقیق و مناسب در جایگاه خود قرار گیرد. از جمله معایب این پژوهش می‌توان به کم بودن تعداد نمونه و همچنین عدم مقایسه گروه‌بندی سویه‌های بیماری‌زا با سویه‌های غیر بیماری‌زا اشاره نمود.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله نویسندگان از کارکنان آزمایشگاه تحقیقات مؤسسه"تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی"شعبه شمال شرق کشور که از هیچ کوششی در راستای انجام این مطالعه دریغ ننمودند، تشکر و قدردانی می‌نمایند.

References

1- Basu S, Mukherjee SK, Hazra A, Mukherjee M. Molecular characterization of *uropathogenic Escherichia coli*: nalidixic acid and ciprofloxacin resistance, virulent factors and phylogenetic background. *Journal of Clinical and Diagnostic Research: JCDR*. 2013; 7(12): 2727.

2- Ejrnæs K. Bacterial characteristics of importance for recurrent urinary tract infections caused by *Escherichia coli*. *Dan Med Bull*. 2011; 58(4): B4187.

3- Lee S, Yu JK, Park K, Oh EJ, Kim SY, Park YJ. Phylogenetic groups and virulence factors in pathogenic and commensal strains of *Escherichia coli* and their association with blaCTX-M. *Annals of Clinical & Laboratory Science*. 2010; 40(4): 361-7.

4- Hamid-Farahani R, Tajik A, Noorifard M, Keshavarz A. Antibiotic resistance pattern of *E.coli* isolated from urine culture in 660 Army clinical laboratory center in Tehran 2008. *J Army Univ Med Sci*. 2012; 10(1): 45- 49. [In Persian]

5- Siyadati S, Ranjbar R, Badami N, nasr EM, karami A. Prevalence of urinary tract infection in spinal cord injury and disability with drug sensitivity of strains isolated. *Journal of Infectious Diseases*. 2008; 42(2): 52-49. [In Persian]

6- Dehdashti S, Ghanbarpour R, Hajikolaei MR. Molecular detection of Shiga toxin–producing and antibiotic-resistant *Escherichia coli* isolates from buffaloes in southwest of Iran. *Tropical animal health and production*. 2019; 51(6):1725-36. [In Persian]

7- Oliveira FA, Paludo KS, Arend LN, Farah SM, Pedrosa FO, Souza EM, *et al.* Virulence characteristics and antimicrobial susceptibility of uropathogenic *Escherichia coli* strains. *Genet Mol Res*. 2011; 10(4): 4114-25.

8- 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. *Environmental microbiology reports*. 2013; 5(1): 58-65.

9- 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 microbiology*. 2010; 10(1): 1-10.

10- Moreno E, Andreu A, Pigrau C, Kuskowski MA, Johnson JR, Prats G. Relationship between *Escherichia coli* strains causing acute cystitis in women and the fecal *E. coli* population of the host. *Journal of clinical microbiology*. 2008; 46(8): 2529-34.

11- **Askari Badouei M, Jajarmi M, Mirsalehian A.** Virulence profiling and genetic relatedness of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from humans and ruminants. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*. 2015; 3(8): 15-20. [In Persian]

12- Dadi BR, Abebe T, Zhang L, Mihret A, Abebe W, Amogne W. Distribution of virulence genes and phylogenetics of uropathogenic *Escherichia coli* among urinary tract infection patients in

Addis Ababa, Ethiopia. *BMC infectious diseases*. 2020; 20(1): 1-2.

13- Flores-Mireles AL, Walker JN, Caparon M, Hultgren SJ. Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. *Nature Reviews Microbiology*. 2015; 13(5): 269-84.

14- Manges AR, Johnson JR, Foxman B, O'Bryan TT, Fullerton KE, Riley LW. Widespread distribution of urinary tract infections caused by a multidrug-resistant *Escherichia coli* clonal group. *New England journal of medicine*. 2001; 345(14): 1007-13.

15- Clermont O, Bonacorsi S, Bingen E. Rapid and simple determination of the *Escherichia coli* phylogenetic group. *Applied and environmental microbiology*. 2000; 66(10): 4555-8.

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 research international*. 2015; 2(5): 52-59. [In Persian]

17- Odoki M, Aliero AA, Tibyangye J, Onkoba SK, Alkali B, Maniga JN, *et al.* Phylogenetic analysis of multidrug resistant *E. coli* isolates from the urinary tract in Bushenyi district, Uganda using the new Clermont phylotyping method. *African Journal of Microbiology Research*. 2020; 14(2): 51-64.

18- Boroumand M, Naghmachi M, Ghatee MA. Detection of Phylogenetic Groups and Drug Resistance Genes of *Escherichia coli* Causing Urinary Tract Infection in Southwest Iran. *Jundishapur Journal of Microbiology*. 2021; 14(2): 1-9. [In Persian]

19- 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 research international*. 2015; 20(15). [In Persian]

20- Hasanzadeh A, Pourmand MR, Gooran S, Hosainzadegan H, Tanomand A, Pourmand G. Molecular typing of fluoroquinolone resistant *Escherichia coli* isolates from patients undergoing prostate biopsy. *Tehran University Medical Journal TUMS Publications*. 2018; 76(9): 629-36. [In Persian]

Phylogenetic classification of *Escherichia coli* isolates obtained from urinary tract infections in Bojnourd city by the new Clermont grouping method

Hamidreza Farzin[1], Majid Jamshidian-Mojaver[1*], Mohadeseh Amiri[2], Kaveh Akbarzadeh-Sherbaf [3], Seyed-Elias Tabatabaeizadeh[1]

1- Assistant Professor, Mashhad Branch, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Mashhad, Iran.
2- MSc in Bacteriology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.
3- Assistant Professor, Department of Computer Engineering, Imam Reza International University, Mashhad, Iran.

Receive: March 9, 2022; Revise: April 27, 2022; Accept: May 21, 2022

Summary

Urinary Tract Infections (UTIs) are one of the most common infections in hospitalized patients and *Escherichia coli* is the most common pathogen and is also responsible for 50-85% of urinary tract infections in communities and hospitals. Recombinations in *Escherichia coli* bacterial populations lead to diversity among them and the formation of phylogenetic groups. By determining the ancestral identity of the strains and the group to which the bacterium belongs, the pathogenic nature or natural flora of the bacterium can be understood. In this study, in a period of 4 months, 50 samples of positive cultures with urinary tract infections were referred to the laboratory located in Samen Al-A'meh Hospital in Bojnourd. Bacterial plates containing pink colonies in McConkey agar medium were selected as suspected *Escherichia coli* isolates and biochemical tests (IMVIC) were performed to confirm the isolates. In this study, four genes *yjaA*, *chuA*, *arpA* and TspE4.C2 were used to determine phylogenetic groups C, F, E, B2, B1, A and D. Further, the frequency of phylogenetic groups were B2 (24%), F (22%), B1 (18%), D (16%), A (8%), C (6%) and E (6%), respectively. All studied isolates could be classified using the new Clermont phylogenetic classification method. A variety of phylogenetic groups were observed among the studied isolates.

Key words: *Uropathogenic Escherichia coli, Urinary tract infection, New Clermont grouping*