تفاوت دوگروه فیلوژنتیکی A و B2 سویه‌های *اشریشیا کلی* یوروپاتوژنیک از نظر توزیع ژن‌های حدت

حسینعلی عبدی*[۱]، نوید طحان زاده[۱]

۱- دانشجوی دکتری ژنتیک مولکولی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه سیستان و بلوچستان، زاهدان، ایران

دریافت مقاله: ۲ آذر ۱۹۳۶، بازنگری: ۳ دی ۱۳۹۶، پذیرش نهایی: ۱۶ بهمن ۱۳۹۶

چکیده

اشریشیا کلی به عنوان فراوان‌ترین باکتری ایجاد کننده عفونت ادراری معرفی شده است. سویه‌های *اشریشیا کلی* ایجاد کننده عفونت ادراری که به عنوان "یوروپاتوژنتیک" شناخته می‌شوند، حاوی فاکتورهای حدت متنوع می‌باشند. بر اساس مطالعات قبلی سویه‌های متعلق به گروه فیلوژنتیکی B2 به عنوان مهم‌ترین سویه، درحالی که سویه‌های گروه A به عنوان کم‌اثرترین سویه در ایجاد عفونت ادراری مطرح هستند. در این مطالعه تعداد ۱۰۰ نمونه *اشریشیا کلی* جدا شده از بیماران مبتلا به عفونت ادراری با روش‌های استاندارد بیوشیمیایی تأیید شد. پس از استخراج DNA ژنومی با روش Triplex-PCR تعداد ۷۲ سویه (۵۵ سویه متعلق به گروه فیلوژنتیکی B2 و ۱۷ نمونه متعلق به گروه A) برای تعیین میزان توزیع ژن‌های حدت انتخاب شدند. فراوانی ژن‌های *cnf1*، *irp2*، *iha* و*ompT* به ترتیب به میزان ۳۹، ۲۹، ۹۲ و ۷۸ درصد مشاهده شد. میزان فراوانی این ژن‌ها در گروه فیلوژنتیکی B2 به مراتب از گروه A بیشتر بود. تفاوت معنی‌داری در میزان توزیع ژن‌های *cnf1* و *irp2* در دو گروه فیلوژنتیکی B2 و A مشاهده شد ($P \geq ۰/۰۵$). از نظر الگوی توزیع ژنی ۱۰ الگوی منحصر به فرد (Ec1-Ec10) برای این دو گروه مشاهده شد. نتایج این مطالعه نشان داد که سویه‌های B2 حاوی ژن‌های حدت بیشتری نسبت به سویه‌های A هستند و احتمالاً نقش مهم‌تری در ایجاد عفونت ادراری دارند.

واژه‌های کلیدی: *اشریشیاکلی یوروپاتوژنیک، ژن‌های حدت، گروه‌های فیلوژنتیک*

* پست الکترونیک نویسنده مسئول مکاتبه: genetics60@gmail.com

مقدمه

اشریشیا کلی به عنوان عامل عمده عفونت‌های ادراری و مشکلات بهداشتی در بسیاری از کشورهای دنیا مطرح است و به تنهایی توانسته منجر به بروز ناراحتی‌های جسمی و نیز خسارات مالی فراوانی گردد (۱). سویه‌هایی که منجر به عفونت‌های ادراری می‌شوند به نام سویه‌های *اشریشیاکلی* یوروپاتوژنیک (UPEC) خوانده می‌شوند (۲).

عفونت ادراری از نظر شیوع دومین نوع عفونت باکتریایی پس از عفونت مجاری تنفسی می‌باشد که میزان بروز آن در زنان بسیار بیشتر از مردان است (۳). سویه‌های UPEC می‌توانند انواع فاکتورهای حدت مرتبط با استقرار و بقای باکتری در مجرای ادراری را بیان کنند و از این طریق ایجاد عفونت در دستگاه ادراری نمایند (۴).

از مهم‌ترین فاکتورهای حدت این سویه‌ها می‌توان به فاکتورهای مربوط به سیستم جمع‌کننده آهن، چسبندگی و سنتز سموم کشنده سلول اشاره کرد. این عوامل حدت به تکثیر و تهاجم باکتری در دستگاه ادراری کمک می‌کند (۵).

سویه‌های *اشریشیا کلی* واجد چهار گروه فیلوژنتیکی اصلی به نام‌های A، B1، B2 و D می‌باشند. مطالعات نشان داده که توزیع ژن‌های مختلف حدت دراین چهار گروه متفاوت است و مطالعات قبلی نشان می‌دهد که نوع گروه - فیلوژنتیک این میکروارگانیسم‌ها نقش مهمی در بیماری‌زایی آنها دارد (۶). سویه‌های خارج روده‌ای بیماری‌زا اساساً درگروه B2 و به مقدارکمتر درگروه D هستند. درحالی که سویه‌های کومنسال متعلق به گروه A و B1 می‌باشند. امروزه تعیین گروه‌های فیلوژنتیکی در باکتری *اشریشیا کلی* با استفاده از حضور یا عدم حضور ژن‌های *chuA*، *yjaA* و قطعه DNA به نام TspE4.C2 انجام می‌شود (۷). نتایج حاصل از مطالعات سویه‌های خارج روده‌ای نشان داده که سویه‌های متعلق به گروه B2 بسیار بیماری‌زاتر از سویه‌های متعلق به گروه D هستند، در حالی که سویه‌های گروه A و B1، اغلب عاری از عوامل حدت خارج روده‌ای می‌باشند (۸).

اولین قدم برای مقابله و مهار بیماری‌زایی باکتری UPEC شناسایی فاکتورهای مهم حدت آن است. با کسب اطلاعاتی درخصوص فراوانی فاکتورهای حدت سویه‌های UPEC و نحوه‌ی توزیع آنها در گروه‌های مختلف فیلوژنتیکی می‌توان در ادامه راهکارهای مقابله و مهار آنها را نیز مورد بررسی و مطالعه قرار داد. از سویی بر اساس اکثر مطالعات قبلی در این زمینه تأکید بر درجه بیماری‌زایی به مراتب بیشتر سویه‌های *اشریشیا کلی* B2 نسبت به سویه‌های A شده است. بنابراین انتظار می‌رود که میزان شیوع ژن‌های حدت در سویه‌های متعلق به این دو گروه تفاوت معنی‌داری داشته باشد. بنابراین مطالعه حاضر جهت تعیین میزان توزیع ژن‌های کدکننده فاکتورهای حدت سیتوتوکسین نکروز دهنده ۱(*cnf1*)، سیدروفور یرسینیا باکتین (*irp2*)، آدهسین غیر هموآگلوتینین(*iha*) و پروتئاز غشای خارجی (*ompT*) در گروه‌های فیلوژنتیکیA و B2 *اشریشیا کلی* به روش Multiplex-PCR انجام گرفت .

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تعداد ۱۲۵نمونه از بیماران مبتلا به عفونت ادراری بستری شده در بیمارستان‌های منطقه سیستان و بیماران مراجعه کننده به آزمایشگاه‌های شهر زابل در فاصله زمانی مرداد تا آذر ۹۲ جمع‌آوری گردید. نمونه‌های ادرار در ظرف استریل جمع‌آوری گردید. ابتدا نمونه‌ها بر روی محیط‌های مک کانکی آگار وEMB کشت شد وپس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای۳۷درجه سانتی‌گراد، کلنی‌ها شمارش شدند. سپس آزمایش‌های بیوشیمیایی مانند اکسیداز،

تخمیرقندها، حرکت، ایندول، اوره آز، احیای نیترات، MR-VP، H2S و سیمون سیترات انجام شد و نهایتاً تعداد ۱۰۰ نمونه *اشریشیا کلی* تشخیص داده شد.

در این مطالعه جهت استخراج DNA ژنومی از روش جوشاندن استفاده شد. DNA استخراج شده در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شد. برای انجام Multiplex-PCR به طور خلاصه، با حجم نهایی۱۶میکرولیتر (۲ میکرولیترDNA، ۱میکرولیتر از هر مخلوط پرایمر(حاوی هر چهار پرایمر با غلظت ۱۰ پیکومول)، ۸ میکرولیتر Master Mix RED 2× (شرکت پیشگام، ایران)، ۴ میکرولیتر آب دیونیزه) و با برنامه دمایی: واسرشتگی (denaturation) اولیه: ۱ سیکل ۹۴ درجه سانتیگراد برای ۴ دقیقه، واسرشتگی: ۳۰ سیکل ۹۴ درجه سانتیگراد برای ۵۰ ثانیه، اتصال پرایمرها (annealing) برای ۴۵ ثانیه در C59°، طویل شدن (extension) برای ۱ دقیقه، در C72° و طویل شدن نهایی (final extension) یک سیکل ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، انجام شد. جدایه‌ها بر اساس داشتن یا فقدان انواع ژن‌های حدت الگوبندی شدند. برای تعیین گروه‌های فیلوژنی از روش Triplex-PCR که در سال ۲۰۰۰ توسط Clermont و همکاران توصیف شد استفاده گردید (۷). در این روش ژن‌های مارکر *chuA, yjaA* و TspE4.C2 با پرایمرهای جدول ۲ تکثیر گردید. گروه‌بندی فیلوژنتیکی بر اساس وجود یا عدم وجود باندهای تکثیری ژن‌های فوق تعیین شد. ژن‌های بیماری‌زای مورد نظر با استفاده از فرایند Multiplex-PCR با آنزیم TaqDNAPolymerase تکثیر گردید. بررسی محصول Triplex-PCR با استفاده از الکتروفورز روی ژل آگارز ۲ درصد و Multiplex-PCR با استفاده از الکتروفورز روی ژل آگارز ۱ درصد و سایز مارکر ۱۰۰bp صورت گرفت. از سویه *E.coli* ATCC 25922 به عنوان کنترل مثبت استفاده شد و از آب مقطر استریل به جای DNA به عنوان کنترل منفی استفاده گردید. اطلاعات پرایمرهای مورد استفاده برای این مطالعه در جدول ۱ آمده است.

جدول۱- مشخصات پرایمرها برای تکثیر ژن‌های حدت

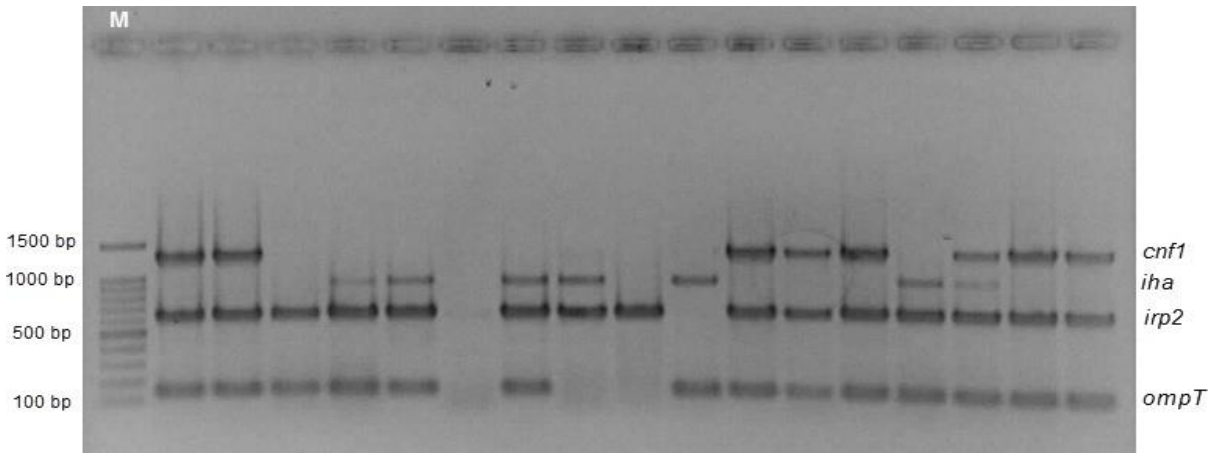
ژن		توالی پرایمرها(′3-′5)	اندازه (bp)
cnf1	F	AGGCAGGAATAAACCAGGAGGT	۱۲۸۶
	R	ACGAGCAGAATTTGACACACGA	
iha	F	CTGGAAGTCAGCATTCGTGGAA	۹۳۴
	R	GATGCCACTCATCCTCAGCAAA	
irp2	F	AGCATCGCCTGCTAAAACTGAA	۶۲۳
	R	CAGACGATGCAGGGCGTTATTA	
ompT	F	TGCGATCAGCTCTTTTGCTTCT	۱۴۴
	R	AGTTGACTGACTTTTCGGCCTC	

آنالیز آماری با کمک نرم افزار SPSS نسخه ۲۱ انجام شد. برای آنالیز حضور ژن‌های حدت در دو گروه فیلوژنتیکی A و B2 از آزمون دقیق فیشر استفاده گردید.

نتایج

از ۱۰۰ نمونه *اشریشیا کلی* تعداد ۷۲ نمونه متعلق به گروه‌های فیلوژنتیکی A (۱۷ نمونه) و B2(۵۵ نمونه) بودند. بقیه نمونه‌ها در گروه‌های فیلوژنتیکی B1 و D قرار گرفتند و از این مطالعه حذف شدند. فراوانی ژن‌های حدت cnf1، iha، irp2 و ompT به ترتیب ۳۹، ۲۹، ۹۲ و ۷۸ درصد در بین ۷۲ نمونه دیده شد. شکل ۱ نمونه الکتروفورز در ژل آگارز ۱/۵ درصد را برای ژن‌های حدت نشان می‌دهد. تمام نمونه‌های گروه فیلوژنتیکی A فاقد ژن

توکسین *cnf1* بودند. بیشترین مقدار ژن‌های حدت در گروه فیلوژنتیکی B2 مشاهده شد. فقط در یک سویه از نمونه‌های فیلوژنتیکیB2 ژن *irp2* دیده نشد. هیچ کدام از سویه‌های متعلق به گروه فیلوژنتیکی A فراوانی ژنی بالاتری نسبت به گروه B2 نداشتند. تفاوت معنی‌داری($P \geq 0/05$) برای حضور ژن‌های *cnf1* و *ompT* در دو گروه فیلوژنتیکی A و B2 مشاهده شد (جدول ۲).



شکل۱- الکتروفورز در ژل آگارز برای محصولات Multiplex-PCR

جدول۲- توزیع ژن‌های حدت در دو گروه فیلوژنتیکی B2 و A

ژن	تعداد	Aتعداد سویه گروه	B2تعداد سویه گروه	P value
cnf1	۲۸	۰	۲۸	۰۰۲۶/۰
iha	۲۱	۲	۱۹	۲۲۳۶/۰
irp2	۶۶	۱۲	۵۴	۵۳۱۶/۰
ompT	۵۶	۳	۵۳	۰۰۶/۰

جدول۳ - الگوهای مختلف توزیع ژنی

الگو	گروه فیلوژنتکی	cnf1	iha	irp2	ompT	تعداد نمونه
Ec1	B2	+		+	+	۲۵
Ec2	B2			+	+	۱۰
Ec3	B2	+	+	+	+	۱۰
Ec4	B2		+	+	+	۱۵
Ec5	B2, A			+		۱۲
Ec6	B2	+		+		۱
Ec7	A					۲
Ec8	A		+		+	۳
Ec9	A		+	+		۱
Ec10	A				+	۱
جمع		۲۸	۲۱	۶۶	۵۶	۷۲

بر اساس نوع الگوی توزیع ژن‌ها در دو گروه فیلوژنتیکی B2 و A تعداد ۱۰ الگو مشاهده شد که با عنوان Ec1 تا Ec10 در جدول ۳ آمده است. دو سویه متعلق به گروه A فاقد چهار ژن مورد مطالعه

بودند و دو سویه متعلق به B2 حاوی تمام ژن‌های مورد مطالعه بودند. ۱۲ سویه فقط حاوی ژن *irp2* بودند که یک سویه متعلق به گروه B2 بود و ۱۱ سویه دیگر متعلق به گروه A بودند. ژن *iha* و *cnf1* برعکس دو ژن دیگر، در هیچ سویه‌ایی به تنهایی دیده نشد و به همراه حداقل یک ژن دیگر بود. در هیچ کدام از ۱۷ سویه A بیش از دو ژن حدت نداشتند.

بحث و نتیجه‌گیری

این مطالعه بر روی جدایه‌های *اشریشیا کلی* به‌دست آمده از عفونت‌های ادراری در دو گروه فیلوژنتیکیA و B2 در منطقه سیستان انجام شد. در مطالعه حاضر از روش Multiplex PCR برای بررسی حضور ۴ ژن حدت (*cnf1*، *iha*، *irp2* و*ompT*) و ۳ ژن (*chuA*، *yjaA* و قطعه DNA به نام TspE4.C2) تعیین‌کننده گروه‌بندی فیلوژنتیکی استفاده شد. روش Multiplex PCR یک روش مطالعه ژنوتیپی مناسب است که جهت بررسی هم‌زمان چندین ژن در یک واکنش PCR با وقت و هزینه کمتر مورد استفاده قرار می‌گیرد. مقایسه دو گروه فیلوژنتیکی از نظر توزیع ژن‌های حدت اهمیت آنها را برای تعیین درجه شدت بیماری‌زایی ایجاد شده توسط سویه مربوطه می‌تواند تعیین کند.

در این مطالعه معلوم شد که در بین ایزوله‌های *اشریشیا کلی* یوروپاتوژنیک فراوانی سویه‌های B2 خیلی بیشتر از سویه‌های متعلق به گروه فیلوژنتیکی A می‌باشد. اطلاعات مطالعه ما در این مورد با اکثر مطالعات قبلی همخوانی دارد (۱۲- ۸). رژیم غذایی به عنوان عامل کلیدی در تعیین فراوانی گروه‌های فیلوژنتیکی *اشریشیاکلی* در پستانداران گزارش شده است (۱۳)، علاوه براین موقعیت جغرافیایی جمعیت‌های انسانی نقش مهمی را در ساختاربندی جمعیت‌های *اشریشیا کلی* دارد و پیشنهاد می‌شود که سطح بهداشت می‌تواند به عنوان عامل مؤثر در تنوع ایزوله‌های بومی هر منطقه، خصوصاً در مناطق گرمسیری نقش داشته باشد (۱۴).در پژوهش حاضر بر اساس توزیع ژن‌های حدتی مورد مطالعه در بین ۷۲ ایزوله *اشریشیا کلی*، ۱۰ الگوی توزیع ژنی منحصر به فرد مشاهده شد (جدول۳). دو سویه حامل تمام ژن‌های حدت مورد مطالعه بود که آن هم به گروه فیلوژنتیکی B2 تعلق داشت. در دو سویه هیچ یک از ژن‌های حدت مورد مطالعه مشاهده نگردید که این ایزوله متعلق به گروه فیلوژنتیکی A بود. نتایج این مطالعه با پژوهش انجام شده در رومانی همخوانی دارد (۱). با توجه به توزیع ژنی در دو گروه B2 و A بیشترین توزیع ژن‌های حدت در ایزوله‌های گروه B2 و کمترین در گروه A مشاهده شد، مطالعات قبلی نیز این نوع توزیع ژنی را تأیید می‌کند (۱۰،۱۱، ۸). در یک مطالعه در تهران که توسط کریمیان و همکاران در سال ۲۰۱۲ روی سویه‌های یوروپاتوژنیک جدا شده از بیماران مبتلا به عفونت ادراری انجام شد نتایج متفاوتی گزارش شد. این گروه فراوانی ژن‌های *cnf1*، *iha*، *irp2* و *ompT* را به ترتیب ۵۰، ۵، ۱۸ و ۱۱ درصد گزارش کردند (۱۵). علت تفاوت در نتایج می‌تواند ناشی از تفاوت در منطقه جغرافیایی یا تفاوت آب و هوایی باشد. در پژوهش دیگر نویسنده بر روی ۱۰۰ سویه *اشریشیا کلی* خارج روده‌ایی ایجاد کننده عفونت تناسلی زنانه مقدار ژن‌های *cnf1*، *iha*، *irp2* و*ompT* به ترتیب به میزان ۱۰، ۸، ۶۳ و ۴۵ درصد گزارش شد (۱۶). این نتایج به نتایج مطالعه حاضر نزدیک است و احتمالاً دلیل تفاوت جزئی با نتایج مطالعه حاضر می‌تواند در نوع متفاوت سویه‌های *اشریشیا کلی* و یا جامعه آماری بزرگتر نسبت به این مطالعه باشد . همچنین در این مطالعه از مجموع ۱۳۲ ایزوله *اشریشیاکلی* ۱۴ و ۶۰ درصد به ترتیب در گروه‌های فیلوژنتیکی Aو B2 قرار گرفتند و بیشترین میزان توزیع ژن‌های حدت در گروه B2 قرار داشت. این میزان زیاد توزیع

ژن‌های حدت در گروه B2 کاملاً با نتایج تحقیق اخیر مطابقت دارد. همچنین در تحقیق دیگر نویسنده روی ۹۴ نمونه *اشریشیا کلی* مدفوعی، فراوانی ژنی ۸ ژن بررسی گردید که فراوانی ژنی ژن‌های *cnf1*، *iha*، *irp2* و *ompT* به ترتیب به میزان ۴، ۲۶، ۹۲ و ۶۷ درصد بودند (۱۷). به علت اینکه سویه‌های *اشریشیا کلی* مدفوعی می‌توانند منبع خوبی برای ایجاد عفونت ادراری خصوصاً در زنان باشند. این نتایج به جز فراوانی ژنی *cnf1* با نتایج ما مطابقت نزدیکی دارد و دلیل تفاوت فراوانی ژنی ژن *cnf1* می‌تواند به علت تفاوت در نوع سویه‌های *اشریشیا کلی* باشد.

فراوانی بالای ایزوله‌های گروه B2 و شیوع بالای ژنی ایزوله‌های این گروه نشان‌دهنده اهمیت و قدرت بالای بیماری‌زایی ایزوله‌های UPEC متعلق به گروه B2 می‌باشد. با شناسایی ژن‌های حدت مهم ایزوله‌هایUPEC، مطالعات تکمیلی جهت طراحی واکسن علیه پروتئین‌های حاصل از این ژن‌ها برای کنترل عفونت ادراری ناشی از *اشریشیا کلی*، می‌تواند در دستور کار محققان آینده قرار گیرد.

References

1- Usein CR, Damian M, Tatu-Chitoiu D, Capusa C, Fagaras R, Tudorache D, *et al.* Prevalence of virulence genes in *Escherichia coli* strains isolated from Romanian adult urinary tract infection cases. J. Cell. Mol. Med. 2001;5(3):303-10.

2- Martinez JJ, Mulvey MA, Schilling JD, Pinkner JS, Hultgren SJ. Type 1 pilus-mediated bacterial invasion of bladder epithelial cells. EMBO J. 2000;19(12):2803-12.

3- Foxman B. Epidemiology of urinary tract infections: incidence, morbidity ,and economic costs. Am J Med. 2002;113(1):5-13.

4- Tiba MR, Yano T, Leite DS. Genotypic characterization of virulence factors in *Escherichia coli* strains from patients with cystitis. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 2008;50(5):255-60.

5- Janke B, Dobrindt U, Hacker J, Blum-Oehler G. A subtractive hybridisation analysis of genomic differences between the uropathogenic E. coli strain 536 and the E. coli K-12 strain MG1655. FEMS Microbiol Lett. 2001;199(1):61-66.

6- Johnson JR, Delavari P, Kuskowski M, Stell AL. Phylogenetic distribution of extraintestinal virulence-associated traits in *Escherichia coli*. J Infect Dis. 2001;183(1):78-88.

7- Clermont O, Bonacorsi S, Bingen E. Rapid and simple determination of the*Escherichia coli* phylogenetic group. Appl Environ Microbiol. 2000;66(10):4555-8.

8- Johnson JR, Russo TA. Molecular epidemiology of extraintestinal pathogenic (uropathogenic) *Escherichia coli*. Int J Med Microbiol. 2005;295(6):383-404.

9- Navidinia M, Peerayeh SN, Fallah F, Bakhshi B. Phylogenetic groups and pathogenicity island markers in *Escherichia coli* isolated from children. Jundishapur J Microbiol. 2013;6(10).

10- 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. Ann Clin Microbiol Antimicrob. 2012;11(1):23.

11- Zhang L, Foxman B, Marrs C. Both urinary and rectal *Escherichia coli* isolates are dominated by strains of phylogenetic group B2. J Clin Microbiol. 2002;40(11):3951-5.

12- Abdi HA, Rashki A. Comparison of Virulence Factors Distribution in Uropathogenic E. coli Isolates From Phylogenetic Groups B2 and D. Int J Enteric Pathog. 2014;2(4): e21725

13- Gordon DM, Cowling A. The distribution and genetic structure of *Escherichia coli* in Australian vertebrates: host and geographic effects. Microbiol. 2003;149(12):3575-86.

14- Escobar-Páramo P, Grenet K, Le Menac'h A, Rode L, Salgado E, Amorin C, *et al.* Large-scale population structure of human commensal *Escherichia coli* isolates. Appl Environ Microbiol. 2004;70(9):5698-700.

15- Karimian A, Momtaz H, Madani M. Detection of uropathogenic *Escherichia coli* virulence factors in patients with urinary tract infections in Iran. Afr J Microbiol Res. 2012;6(39):6811-6.

17- Rashki A, Abdi H. The Relationship between Phylogenetic Groups and Pathogenicity Encoding Genes with regards to Extra-Intestinal *Escherichia coli* Isolates' Factors using Multiplex-PCR Method. Journal of Babol University of Medical Sciences. 2015;17(2):36-42.

18- Rashki A, Abdi HA, Shookohi M. Prevalence of Genes Encoding Outer Membrane Virulence Factors Among Fecal *Escherichia coli* Isolates. Int J Basic Sci Med. 2017;2(1):52-7.

The difference between two phylogenetic groups A and B2 of Uropathogenic *E. coli* strains in terms of distribution of virulence genes

Hosein Ali Abdi*[1]; Navid Tahanzadeh [1]

1 - PhD Student in Molecular Genetics, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, University of Sistan and Baluchestan, Zahedan, Iran.

Receive: November 23, 2017; Revise: December 24, 2017; Accept: January 12, 2018

Summary

Escherichia coli is the most abundant bacterium that causes urinary tract infections. The *E. coli* strains that cause urinary tract infections, known as "Uropathogenic *E.coli* (UPEC)", contain various virulence factors. According to previous studies, the strains belonging to the phylogenetic group B2 are the most important strains, whereas strains of group A are the least effective strains for causing urinary tract infections. In this study, 100 samples of *E. coli* isolated from patients with urinary tract infection were confirmed by standard biochemical methods. After extraction of genomic DNA, 72 strains (55 strains belonging to phylogenetic group B2 and 17 samples belonging to group A) were selected by Triplex-PCR method to determine the distribution of virulence genes. The frequency of virulence genes *cnf1*, *irp2*, *iha* and *ompT* were observed to be 38.88%, 29.16%, 91.66% and 77.77%, respectively. The frequency of these genes in phylogenetic group B2 was significantly higher than group A. Significant difference was observed in the distribution of *cnf1* and *irp2* genes in both phylogenetic groups B2 and A ($P \leq 0.05$). In terms of gene distribution pattern, 10 unique patterns (Ec1-Ec10) were observed for these two groups. The results of this study showed that strains B2 contain more virulent genes than strains A and may have an important role in the development of urinary tract infections.

Keywords: *Uropathogenic Escherichia coli, Phylogenetic groups, Virulence genes*