Frequency of P and type 1 fimbriae-encoding genes among uropathogenic Escherichia coli isolated from hospitalized patients in Qazvin and Karaj hospitals

M. Mahdikhani[*] A. Peymani[**] T. Naserpour-Farivar[***] M. Aslanimehr[**]

*M.Sc. in Microbiology, Islamic Azad University, Zanjan Branch, Zanjan, Iran
**Assistant Professor of Microbiology, Cellular and Molecular Research Center, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran
***Professor of Microbiology, Cellular and Molecular Research Center, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

Abstract

Background: *Escherichia coli* (*E. coli*) is the most important cause of urinary tract infections in hospitalized patients especially in intensive care unit (ICU). Colonization of *E. coli* and its attachment to uroepithelium are mediated by adhesins such as type 1 (fimH) and P (papC) fimbriae.

Objective: The aim of this study was to determine the frequency of type 1 and P fimbriae-encoding genes among uropathogenic *E.coli* in ICUs.

Methods: In this descriptive study, 120 clinical isolates of uropathogenic *E.coli* were collected from patients with urinary tract infection in ICUs of Qazvin and Karaj hospitals during 2013 and 2014. All bacterial isolates were identified by standard laboratory methods and the *fimH* and *papC* genes were detected using the PCR method.

Findings: Forty (33.3%) isolates were positive for *fimH* gene and 5 (4.2%) isolates were positive for *papC* gene. Sixty six (55%) isolates were positive for both genes, and 9 (7.5%) isolates were negative for them.

Conclusion: The findings of this study showed the high frequency of type 1 and P fimbriae among uropathogenic *E.coli* isolates from ICU patients in the studied hospitals.

Keywords: *Escherichia coli*, FimH Protein, PapC Protein, Urinary Tract Infections, Intensive Care Units

Citation: Mahdikhani M, Peymani A, Naserpour-Farivar T, Aslanimehr M. Frequency of P and type 1 fimbriae among uropathogenic Escherichia coli isolated from hospitalized patients in Qazvin and Karaj hospitals. J Qazvin Univ Med Sci. 2015; 19 (3): 35-40.

Corresponding Address: Amir Peymani, Cellular and Molecular Research Center, Qazvin University of Medical Sciences, Shahid Bahonar Blvd., Qazvin, Iran
Email: a.peymani@gmail.com
Tel: +98-28-33324971
Received: 24 Jan 2015
Accepted: 6 Apr 2015

فراوانی ژن‌های کدکننده فیمبریه‌های نوع ۱ و P در جدایه‌های اشرشیاکلی بیماران بستری در بیمارستان‌های کرج و قزوین

مهسا مهدیخانی* دکتر امیر پیمانی** دکتر تقی ناصرپور فریور*** دکتر معصومه اصلانی مهر**

* کارشناس ارشد میکروب‌شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان، زنجان، ایران
** استادیار میکروب‌شناسی مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران
*** استاد میکروب‌شناسی مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران

آدرس نویسنده مسؤول: قزوین، بلوار شهید باهنر، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی قزوین، تلفن ۳۳۳۲۴۹۷۱– ۰۲۸
Email: a.peymani@gmail.com
تاریخ دریافت: ۹۳/۱۱/۴ تاریخ پذیرش: ۹۴/۱/۱۷

چکیده

زمینه: اشرشیاکلی مهم‌ترین عامل ایجادکننده عفونت‌های ادراری در بیماران بستری به ویژه در بخش مراقبت‌های ویژه است. کلونیزاسیون این ارگانیسم به واسطه عوامل اتصالی مهم از جمله فیمبریه‌های نوع ۱ (FimH) و P (PapC) به سطوح اپی‌تلیال مجاری ادراری انجام می‌شود.

هدف: مطالعه به منظور تعیین فراوانی دو ژن کدکننده فیمبریه‌های نوع ۱ و P در اشرشیاکلی مولد عفونت ادراری در بخش مراقبت‌های ویژه انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه توصیفی، ۱۲۰ جدایه اشرشیاکلی از نمونه ادرار بیماران مبتلا به عفونت دستگاه ادراری طی سال‌های ۱۳۹۲ تا ۱۳۹۳ از بخش مراقبت‌های ویژه بیمارستان‌های آموزشی شهرهای کرج و قزوین جمع‌آوری شدند. تمامی جدایه‌های باکتریایی با روش‌های استاندارد آزمایشگاهی تعیین هویت شدند و سپس حضور ژن‌های *fimH* و *papC* با استفاده از آزمون PCR بررسی شد.

یافته‌ها: در مجموع، ۴۰ جدایه (۳۳/۳٪) ژن *fimH*، ۵ جدایه (۴/۲٪) ژن *papC*، ۶۶ جدایه (۵۵٪) همزمان هر دو ژن را داشتند و ۹ جدایه (۷/۵٪) فاقد ژن‌های مورد مطالعه بودند.

نتیجه‌گیری: یافته‌های مطالعه حاکی از حضور بالای فیمبریه‌های نوع ۱ و P در جدایه‌های اشرشیاکلی جدا شده از بیماران بستری در بخش مراقبت‌های ویژه بیمارستان‌های مورد مطالعه بود.

کلیدواژه‌ها: اشرشیاکلی، پروتئین fimH ، پروتئین papC، عفونت‌های ادراری، بخش‌های مراقبت ویژه

مقدمه:

اشرشیاکلی از اعضای خانواده انتروباکتریاسه، یکی از عوامل مهم ایجادکننده عفونت‌های بیمارستانی محسوب می‌شود. گزارش‌های مختلفی از سراسر جهان مبنی بر نقش این ارگانیسم‌ها در ایجاد عفونت‌های جدی و مهم از جمله عفونت‌های دستگاه ادراری، دستگاه تنفس، پوست، بافت نرم و خون در بخش‌های مختلف بیمارستانی به ویژه بخش مراقبت ویژه (ICU) وجود دارد.[۱] شیوع عفونت ادراری در بیماران بستری، به علت استفاده از کاتترهای ادراری، یکی از نگرانی‌های جدی متخصصین بالینی است که ضعف سیستم ایمنی بیماران بخش‌های مراقبت ویژه و وخیم بودن حال عمومی آن‌ها، به کاهش توانایی در مقابله با این عفونت‌ها منجر می‌شود.[۲]

اتصال ارگانیسم به سلول‌های اپی‌تلیال دستگاه ادراری اولین مرحله در ایجاد عفونت‌های ادراری است. این اتصال کمک می‌کند تا باکتری نسبت به عمل شستشوی جریان ادرار و تخلیه مثانه مقاومت کند. سویه‌های اشرشیاکلی مسؤول عفونت‌های ادراری، عوامل اتصالی به نام پیلی یا فیمبریه دارند که به آن‌ها اجازه می‌دهد تا به

طور موفقیت‌آمیزی عفونت را آغاز کنند. فیمبریه‌ها مسؤول اتصال باکتری به سطح سلول‌های اپی‌تلیال مجاری ادراری و کلیه‌ها هستند.[۳] اشرشیاکلی می‌تواند انواع متفاوتی از فیمبریه‌های لازم برای تشخیص و اتصال به گیرنده‌های مجاری ادراری را تولید کند، که فراوان‌ترین آن‌ها عبارتند از: فیمبریه نوع ۱ که توسط ژن *fim* کد می‌شود و فیمبریه P که توسط ژن *pap* کد می‌شود. این عوامل اتصالی، حمل‌کننده لیگاندها یا ادهسین‌ها هستند و به گیرنده‌های موجود در سطح سلول‌ها متصل می‌شوند و مقدمات عفونت‌های ادراری را ایجاد می‌کنند.[۴]

فیمبریه نوع ۱ ساختاری پیچیده دارد و به طور عمده شامل یک زیر واحد بزرگ (FimA) و یک نوک فیمبریوم است. در نوک فیمبریه نوع ۱، ساختار فیبریلی کوچکی قرار دارد که حاوی FimG، FimH و احتمالاً ترکیب جزئی از FimF است و به ساختار میله‌ای حاوی زیر واحدهای FimA متصل شده است. در این میان، فیمبریه FimH به بخش‌های مختلف دستگاه ادراری می‌چسبد. فیمبریه نوع ۱ به مانوز حساس است که البته تهاجم‌های FimH به سلول‌های اپی‌تلیال توسط باند سیستئین در دومین مانوز و فعال‌سازی آبشار سیگنال ترانس داکشن با استفاده از پروتئین تیروزین کیناز، فسفواینوزیتید ۳-کیناز و بازآرایی اکتین اسکلت سلولی انجام می‌شود. عوامل اتصالی FimH گلیکوپروتئین مانوزیله و گیرنده‌های اینتگرین β1 و α3 را از روی سطح لومنی سلول‌های اپی‌تلیال مثانه شناسایی می‌کنند.[۵و۶]

فیمبریه P توسط اپرون پاپ (Pap) بیان می‌شود که ۱۱ ژن مختلف دارد. از بین ژن‌های مذکور ژن *papC* یک ژن کاملاً حفاظت شده است و برای بررسی حضور اپرون پاپ استفاده می‌شود. این پیلی‌ها از شش پروتئین ساختاری متمایز تشکیل شده‌اند و حداقل به دو محصول ژن اضافی برای تجمع نیاز دارند. این فیمبریه عامل اتصال اشرشیاکلی به سلول‌های اپی‌تلیال کلیه انسان است و موجب پیلونفریت می‌شود.[۷و۸]

در مجموع عفونت‌های دستگاه ادراری در افراد زیر بیش‌تر مشاهده می‌شود: بیماران دارای نقص سیستم ایمنی، افراد تحت درمان پزشکی و جراحی، افراد سالخورده و کسانی که تحت درمان با ابزارهای تهاجمی یا پروتز قرار می‌گیرند. لذا میزان عفونت بیمارستانی ناشی از اشرشیاکلی در بخش مراقبت ویژه در مقایسه با سایر بخش‌های بیمارستان، بالاتر است.[۹]

نظر به اهمیت عوامل اتصالی در استقرار ارگانیسم و شروع عفونت، مطالعه حاضر با هدف تعیین فراوانی ژن‌های فیمبریه *fimH* و *papC* در جدایه‌های اشرشیاکلی بیماران بستری در بخش مراقبت ویژه بیمارستان‌های کرج و قزوین انجام شد.

❋مواد و روش‌ها:

در این مطالعه توصیفی، در مجموع ۱۲۰ جدایه اشرشیا کلی از نمونه‌های ادرار بیماران بستری در بخش‌های مراقبت ویژه بیمارستان‌های کرج و قزوین طی سال‌های ۱۳۹۲ تا ۱۳۹۳ جمع‌آوری شد.

تعیین هویت جدایه‌های باکتریایی با استفاده از آزمون‌های استاندارد بیوشیمیایی و میکروب‌شناسی زیر انجام شد: رنگ‌آمیزی گرم و بررسی میکروسکوپی، کشت بر روی محیط مکانکی آگار، انجام آزمون اکسیداز، کشت بر روی محیط SIM (Indole Motility Medium Sulphate)، بررسی مصرف سیترات (کشت بر روی محیط سیمون سیترات)، کشت بر روی محیط TSI (Triple Sugar Iron Agar)، کشت بر روی محیط LIA (Lysine Iron Agar) و کشت بر روی محیط‌های متیل رد و ووگس پروسکائر. تمامی محیط‌های استفاده شده در این مطالعه ساخت شرکت مرک آلمان بودند.

پس از تأیید گونه باکتریایی، DNA تمامی جدایه‌ها با استفاده از کیت (شرکت Bioneer کره جنوبی) و براساس دستور کار کیت استخراج شد. برای شناسایی حضور ژن‌های ویرولانس از روش PCR استفاده شد. واکنش PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر انجام شد و هر

واکنش شامل ۲۰۰ میکرومول dNTP (deoxynucleotide triphosphates)، ۱۰ پیکومول از هر پرایمر ۱/۵ میلی مول در لیتر کلرید منیزیوم، ۰/۵ واحد آنزیم Taq و۵۰ نانوگرم DNA الگو بود (جدول شماره ۱).

جدول ۱- پرایمرهای به کار رفته برای تکثیر ژن‌های fimH و papC در جدایه‌های اشرشیاکلی مورد مطالعه

ژن	توالی پرایمر 5'-3'	اندازه محصول (bp)
fimH	F-AACAGCGATGATTTCCAGTTTGTGTG R-ATTGCGTACCAGCATTAGCAATGTCC	۴۶۵
papC	F-GACGGCTGTACTGCAGGGTGTGGCG R-ATATCCTTTCTGCAGGGATGCAATA	۳۲۸

تکثیر ژن‌های *fimH* و *papC* با استفاده از دستگاه ترمال سیکلر (Applied biosystems ساخت کشور آمریکا) و تحت شرایط زیر انجام شد: دمای واسرشت اولیه ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، ۳۵ سیکل حرارتی شامل دمای واسرشت ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه، دمای اتصال پرایمر ۵۹ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه مربوط به ژن *fimH* و ۶۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه مربوط به ژن *papC*، دمای تکثیر ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه و دمای تکثیر نهایی ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه.[۱۰] محصولات PCR با الکتروفورز روی ژل آگارز ۱ درصد و پس از رنگ‌آمیزی با اتیدیوم برماید بررسی شدند.

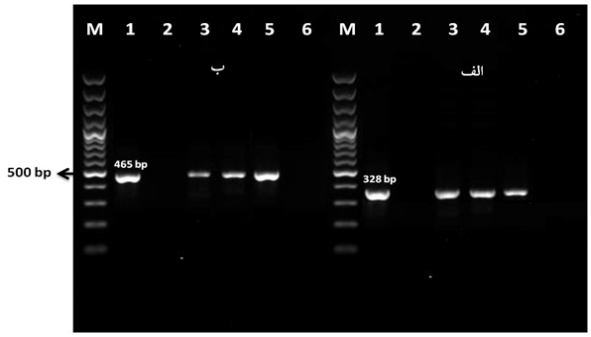
❋یافته‌ها:

از مجموع ۱۲۰ جدایه اشرشیا کلی مورد مطالعه، ۸۶ جدایه (۷۱/۶۶ درصد) مربوط به زنان و ۳۴ جدایه (۲۸/۳۳ درصد) مربوط به مردان بود. میانگین سنی بیماران ۱۷±۵۳ سال (محدوده سنی ۱۷ تا ۸۹ سال) بود.

با انجام آزمون PCR، در مجموع ۱۰۶ جدایه (۸۸/۳ درصد) و ۷۱ جدایه (۵۹/۲ درصد) به ترتیب از نظر حضور ژن‌های *fimH* و *papC* مثبت بودند (جدول شماره ۲). تعداد ۶۶ جدایه (۵۵ درصد) به طور همزمان حاوی هر دو ژن مورد مطالعه بودند (شکل شماره ۱).

جدول۲- فراوانی ژن های *fimH* و *papC* در جدایه‌های اشرشیاکلی بیماران بخش مراقبت ویژه بیمارستان‌های مورد مطالعه

ژن	فراوانی	درصد
fimH	۴۰	۳۳/۳
papC	۵	۴/۲
papC + fimH	۶۶	۵۵
منفی	۹	۷/۵
مجموع	۱۲۰	۱۰۰



شکل ۱- نتایج الکتروفورز ژن‌های *papC* و *fimH* در جدایه‌های اشرشیاکلی مورد مطالعه

بخش (الف): محصول PCR از نظر حضور ژن *papC* و بخش (ب): محصول PCR از نظر حضور ژن *fimH*- ستون M= شاخص DNA (۱۰۰bp)، ستون ۱= شاهد مثبت (تأیید توالی شده)، ستون۲= جدایه بالینی منفی، ستون‌های ۳ تا ۵= جدایه بالینی مثبت، ستون ۶= شاهد منفی واکنش PCR (بدون DNA الگو).

❋بحث و نتیجه‌گیری:

این مطالعه نشان داد که به ترتیب ۸۸/۳ درصد و ۵۹/۲ درصد از جدایه‌های اشرشیاکلی عفونت‌های ادراری بیماران بستری از نظر حضور ژن‌های *fimH* و *papC* مثبت بودند. ممتاز و همکاران در سال ۱۳۹۲ فراوانی ژن‌های *fimH* و *papC* را در تهران به ترتیب ۸۶/۱۷ درصد و ۵۰/۴۰ درصد گزارش کردند.[۱۱] اعرابی و همکاران در تنکابن نیز فراوانی ژن‌های *fimH* و *papC* را در میان ۳۴۳ جدایه اشرشیاکلی به ترتیب ۸۷/۷ درصد و ۳۰ درصد گزارش کردند.[۱۲] کریمیان و همکاران با بررسی ۱۲۳ جدایه بیماران مبتلا به عفونت دستگاه ادراری

در بیمارستان‌های شهر تهران، فراوانی ژن‌های *fimH* و *papC* را به ترتیب ۷۹/۶۷ درصد و ۵۰/۴ درصد گزارش کردند.[۱۳] در مطالعه بهالو و همکاران در سال ۱۳۹۲ در اشرشیاکلی جدا شده از عفونت‌های ادراری در شهرکرد، فراوانی ژن‌های *fimH* و *papC* به ترتیب ۹۰ درصد و ۴۰ درصد گزارش شد.[۱۴] همچنین حجتی و همکاران در سال ۱۳۹۳ در شهرکرد، فراوانی ژن *fimH* را در اشرشیاکلی جدا شده از عفونت‌های ادراری ۹۲/۸ درصد گزارش کردند.[۱۵]

در سایر کشورهای جهان، تارچونا و همکاران در سال ۲۰۱۳ در کشور تونس فراوانی ژن‌های *fimH* و *papC* در اشرشیاکلی جمع‌آوری شده از بیماران بستری مبتلا به عفونت ادراری را به ترتیب ۶۸ درصد و ۴۱ درصد گزارش کردند.[۱۰] تیبا و همکاران در سال ۲۰۰۸ در کشور برزیل با بررسی ۱۵۸ جدایه اشرشیاکلی جدا شده از بیماران مبتلا به التهاب مثانه، فراوانی ژن *fimH* را ۹۵/۵ درصد و ژن *papC* را ۳۲/۷ درصد گزارش کردند.[۱۶] لوپز و همکاران نیز در سال ۲۰۱۴ در مکزیک شیوع ژن‌های *fimH* و *papC* را به ترتیب ۸۶/۱ درصد و ۶۲ درصد گزارش کردند.[۱۷] چوی و همکاران در سال ۲۰۱۲ در کره جنوبی شیوع ژن‌های *fimH* و *papC* را به ترتیب ۸۹/۷ درصد و ۵۱/۳ درصد گزارش کردند.[۱۸] در رومانی، یوسین و همکاران در سال ۲۰۱۱ شیوع ژن‌های *fimH* و *papC* را به ترتیب ۹۸ درصد و ۴۲ درصد گزارش کردند. در مطالعه آن‌ها فراوانی ژن‌های بیماری‌زای مورد مطالعه در جدایه‌های اشرشیاکلی جمع‌آوری شده از بیماران بستری در بیمارستان در مقایسه با بیماران سرپایی آمار بیش‌تری را نشان داد.[۱۹] در اسلوونی، استارسیس ارجاوک و همکاران شیوع ژن‌های *fimH* و *papC* را در اشرشیاکلی جدا شده از عفونت‌های دستگاه ادراری به ترتیب ۹۷ درصد و ۴۹ درصد گزارش کردند.[۲۰] نتایج مطالعه حاضر نیز در مقایسه با سایر مطالعه‌های انجام شده در این خصوص، حاکی از حضور قابل توجه ژن‌های *fimH* و *papC* در جدایه‌های اشرشیاکلی مولد عفونت‌های دستگاه ادراری بود که بر اهمیت این دو عامل بیماری‌زا در ایجاد این عفونت مهم بالینی به خصوص در بیماران بستری در بخش‌های ویژه بیمارستان‌ها تأکید دارد.

این دو عامل در جای‌گیری ارگانیسم در مجاری ادراری و قابلیت ایجاد عفونت و پیشرفت بیماری به اندام‌های فوقانی دستگاه ادراری به ویژه در بیماران بستری در بخش‌های مراقبت ویژه دخیل هستند و توجه به آن‌ها در بحث پیشگیری و درمان بیماران ضروری است.

❋مراجع:

1. Brooks GF, Carroll KC, Butel JS, Morse SA, Mietzner TA. Jawetz, Melnick. Medical Microbiology. 25th ed. United States: McGraw-Hill; 2010. 219.

2. Singh S, Goyal R, Ramesh GS, Ravishankar V, Sharma RM, Bhargava DV, et al. Control of hospital acquired infections in the ICU: A service perspective. Med J Armed Forces India 2015 Jan; 71 (1): 28-32.

3. Kaper JB, Nataro JP, Mobley HL. Pathogenic *Escherichia coli*. Nat Rev Microbiol 2004 Feb; 2 (2): 123-40.

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

5. Mulvey MA, Schilling JD, Martinez JJ, Hultgren SJ. Bad bugs and beleaguered bladders: interplaybetween uropathogenic *Escherichia coli* and innate host defenses. Proc Natl Acad Sci U S A. 2000 Aug 1; 97 (16): 8829-35.

6. Eto DS, Jones TA, Sundsbak JL, Mulvey MA. Integrin-mediated host cell invasion by type 1-piliated uropathogenic *Escherichia coli*. PLoS Pathog 2007 Jul; 3 (7): e100.

7. Marrs CF, Zhang L, Foxman B.

Escherichia coli mediated urinary tract infection: are there distinct uropathogene *E. coli* (UPEC) pathotypes. FEMS Microbiol Lett 2005 Nov 15; 252 (2): 183-90.

8. Dodson KW, Pinkner JS, Rose T, Magnusson G, Hultgren SJ, Waksman G. Structural basis of the interaction of the pyelonephritic E. coli adhesin to its human kidney receptor. Cell 2001 Jun 15; 105 (6): 733-43.

9. Tominaga GT, Dhupa A, McAllister SM, Calara R, Peters SA, Stuck A. Eliminating catheter-associated urinary tract infections in the intensive care unit: is it an attainable goal? Am J Surg. 2014 Dec; 208 (6): 1065-70.

10. Tarchouna M, Ferjani A, Ben-Selma W, Boukadida J. Distribution of uropathogenic virulence genes in *Escherichia coli* isolated from patients with urinary tract infection. Int J Infect Dis 2013 Jun; 17 (6): e450-3.

11. Momtaz H, Karimian A, Madani M, Safarpoor Dehkordi F, Ranjbar R, Sarshar M, et al. Uropathogenic *Escherichia coli* in Iran:Serogroup distributions, virulence factors andantimicrobial resistance properties. Ann Clin Microbiol Antimicrob 2013 Apr 29; 12: 8.

12. Arabi S, Tohidi F, Naderi S, Nazemi A, Jafarpour M, Naghshbandi R. The common fimbarie genotyping in uropathogenic *Escherichia coli*. Annals of Biological Research 2012; 3 (10): 4951-4.

13. 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 Oct 11; 6 (39): 6811-16.

14. Bahalo S, Tajbakhsh E, Tajbakhsh S, Momeni M, Tajbakhsh F. Detection of some virulence factors of *Escherichia coli* isolated from urinary tract infection isolated of children in Shahrekord Iran by multiplex PCR. Middle East J Sci Res 2013; 14 (1): 29-32.

15. Hojati Z, Zamanzad B, Hashemzadeh M, Molaie R, Gholipour A. Detection of FimH gene in uropathogenic *Escherichia coli* strains isolated from patients with urinary tract infection. Jundishapur J Microbiol 2015 Feb; 8 (2): e17520.

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

17. López-Banda DA, Carrillo-Casas EM, Leyva-Leyva M, Orozco-Hoyuela G, Manjarrez-Hernández ÁH, Arroyo-Escalante S, et al. Identification of virulence factors genes in Escherichia coli isolates from women with urinary tract infection in Mexico. Biomed Res Int 2014; 2014: 959206.

18. Choi UY, Han SB, Lee SY, Kang JH, Kim SM, Ma SH. Regional differences in phylogenetic group of *Escherichia coli* strains isolated from children with urinary tract infection in Korea. Korean J Pediatr 2012 Nov; 55 (11): 420-3.

19. Usein C-R, Grigore LA, Georgescu RM, Bãltoiu MC, Condei M, Teleman MD. Phylogenetic background and extraintestinal virulence genotypes of *Escherichia coli* vaginal strains isolated from adult women. Revista Română de Medicină de Laborator 2011; 19 (1): 37-45.

20. StarčičErjavec M, Žgur-Bertok D. Prevalence, distribution and genetic association of adhesin gene sequences of Escherichia coli isolates from urinary tract infections in Slovenia. Acta biologica slovenica 2008; 51 (1): 21-31.