مجله میکروب شناسی پزشکی ایران
سال ۲ شماره‌های ۳ و ۴ پائیز و زمستان ۱۳۸۷، صفحات ۳۷-۳۱

ارزیابی اپیدمیولوژیک ژن‌های ویرولانس *hly, cnf-1, sfa , pap* درسویه‌های *اشریشیا کلی* جدا شده از کودکان مبتلا به عفونت مجاری ادراری

شهره فرشاد*[۱]، فاطمه امام قریشی[۲]، مانلی امین شهیدی[۱]

۱) مرکز تحقیقات میکروب شناسی بالینی استاد البرزی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز
۲) بخش اطفال، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جهرم
نویسنده رابط: شهره فرشاد، مرکز تحقیقات میکروب شناسی بالینی استاد البرزی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز
تلفن : ۰۷۱۱-۶۴۷۴۳۰۴ فاکس: ۰۷۱۱-۶۴۷۴۳۰۳ s-farshad@yahoo.com

تاریخ دریافت مقاله : ۸۷/۱۱/۲۳ تاریخ پذیرش مقاله :۸۸/۳/۱۳

چکیده:

زمینه و اهداف: عفونت دستگاه ادراری ناشی از *اشریشیا کلی* یکی از شایع ترین بیماری‌ها در کودکان است. چهار ژن ویرولانس *pap, cnf-1, hly* و *sfa* در این ارگانیسم عامل مهمی در پاتوژنیسیته و به‌ویژه اتصال به سلول‌های اپی تلیال هستند. این مطالعه برای ارزیابی چهارژن ویرولانس در سویه های *اشریشیا کلی* جدا شده از نمونه های ادراری کودکان مبتلا به عفونت ادراری و همچنین در راستای برقراری ارتباط آنها با شواهد بالینی انجام گرفت.

روش بررسی: سویه های *اشریشیا کلی* از نمونه ادرار کودکان مبتلا به عفونت‌های ادراری مراجعه کننده به بیمارستان مطهری جهرم (مرداد ۱۳۸۴ الی مرداد ۱۳۸۵) جدا شد، و با تست های افتراقی شناسائی گردید. سویه ها از نظر وجود ژن‌های *pap, cnf-1, hly* و *sfa* با روش واکنش زنجیره ای پلیمراز (PCR)، ارزیابی شدند.

یافته ها: درمجموع ۹۶ سویه *اشریشیا کلی* از نمونه‌های ادرار ۱۰۱ کودک ۱ ماهه تا ۱۴ ساله، با میانگین سنی ۲۶/۹±۲۱/۸ ماه، جدا شد. تشخیص افتراقی بیماری بالینی در ۴۶ مورد (۴۷/۹٪) سیستیت و در ۵۰ مورد(۵۲/۱٪) پیلونفریت بود. درصد شیوع ژن‌های *pap , sfa , hly* و *cnf-1* به ترتیب در میان سویه‌ها ۱/ ۲۷٪ (n=۲۶)، ۱۴/۶٪ (n=۱۴)، ۱۳/۵٪ (n=۱۳) و ۲۲/۹٪ (n=۲۲) بود. ۳۲ نمونه (۳۳/۳ ٪) برای حداقل یکی از ژن‌ها و ۶ نمونه (۶/۳ ٪) برای تمامی چهارژن مثبت بودند. شایع ترین ژن‌ها درگروه سنی بالای ۳۶ ماه ژن‌های *pap* و *sfa* بودند اما در سنین زیر ۴۸ ماه *hly* شیوع بیشتری داشت (P<۰/۰۵) . ژن *cnf-1* به طور قابل ملاحظه ای درتعدادی از بیماران، که در سونوگرافی یافته‌های غیر طبیعی کلیوی داشتند، متداول تر بود(P=۰/۰۴۹).

نتیجه گیری : شیوع ژن های ویرولانس *pap , cnf-1, hly* و *sfa* مشابه سایر بررسی ها است. به دلیل شیوع بیشتر موارد پیلونفریت در ارتباط با ارگانیسم های حامل این ژن‌ها، تشخیص سریع آنها در نمونه‌های ادرار ممکن است ما را در تشخیص زود هنگام پیلونفریت احتمالی و تسریع در مدیریت درمانی کمک نماید.

کلید واژه ها: *اشریشیا کلی*، پیلونفریت, سیستیت، واکنش زنجیره ای پلیمراز، ژن‌های ویرولانس

مقدمه:

عفونت مجاری ادراری (Urinary tract infection: UTI) یکی از متداول‌ترین عفونت‌ها است و *اشریشیا کلی* شایع‌ترین عامل آن شناخته شده است (۱). این ارگانیسم همچنین عامل ۹۰٪ تمامی عفونت‌های ادراری شناخته شده در بیماران سرپائی است (۲). شدت عفونت بستگی به هر دو عامل حساسیت میزبان و ویرولانس باکتری‌های عفونت زا دارد. بیمارانی که مشکلات پزشکی زمینه ای دارند، یا به واسطه‌ی برخی اختلالات آناتومیک در مجاری ادراری مبتلا به اشکال در جریان ادرار هستند، و یا درگیر مداخلات تشخیصی درمانی می‌باشند، مستعد کلونیزاسیون مجاری ادراری با *اشریشیا کلی* هستند (۳). به نظر می رسد سویه‌های *اشریشیا کلی* که دارای قابلیت عفونت زائی ادراری هستند ویژگی‌های ویرولانس مختلفی از خود نشان می‌دهند که در کلونیزاسیون سطوح مخاطی میزبان و مهار دفاع میزبانی نقش دارند. بدین ترتیب می‌توانند به باکتری اجازه تهاجم به مجاری ادراری را بدهند که در حالت طبیعی استریل هستند(۴).

ژن‌های مختلفی فاکتورهای ویرولانس ادراری راکد می‌کنند که از آن جمله می‌توان به ژن‌های ذیل اشاره کرد:

همولیزین (*hly*) ،فاکتور نکروز کننده سیتو توکسیک (*cnf*-1)، (*pap*) p-pili F13 ، ادهزین‌های خانواده S (*sfa*) ، آئروباکتین (*aer*) ،یرسینیا باکتین(*fyu*) و تعدادی از فاکتورهای کپسولی (K5) و توکسین خود منتقل شونده (*sat*-1) که در کروموزوم و یا دسته‌های تشکیل دهنده پلاسمیدها واقع شده اند که تحت عنوان جزایر پاتوژنیسیتی (PAIs) خوانده می‌شوند. برخی از ژن ها همچون *hly* ,*pap* ; (PAI-I) *cnf*-1, (PAI-II) *hly* ;(PAI-III) *sfa* ;(PAI-IV) *fhy* و به‌عنوان مارکرهای PAI بکار برده می‌شوند (۵) که با از پای انداختن مکانیسم‌های دفاعی میزبان نقش مهمی را در پاتوژنز سویه‌های *اشریشیا کلی* و ایجاد بیماری به عهده دارند.یکی ازآنها مثل pilus (*pap* or p fimbriae) با پیلونفریت در ارتباط است (۷،۶). مع‌هذا اغلب بررسی‌ها نشان می‌دهند که در بزرگسالان، دفاع میزبان می‌تواند مانع اتصال شاخص‌های ویرولانس شود. در این بررسی اپیدمیولوژی ژن‌های ویرولانس *cnf*-1, *sfa*, *pap* و *hly* ارزیابی شد و ارتباط آنها با شواهد بالینی در کودکان مبتلا به UTI تعیین گردید.

مواد و روش ها:

بیماران : کودکان مبتلا به UTI مراجعه کننده به بیمارستان مطهری جهرم در فاصله ماه‌های مرداد ۸۵-۱۳۸۴ بررسی شدند . UTI توسط کادر بیمارستان و بر پایه علائم بالینی و نتایج آزمایشگاهی تشخیص داده شد. پیلونفریت حاد به‌صورت بالینی در نوزادان همراه با تب (دمای بالاتر از°C ۳۸/۵)، درد، حساسیت ناحیه لومبار و سپسیس تعریف شد. سیستیت زمانی مورد توجه قرار گرفت که بیمار دارای پیوری (pyuria) و سوزش ادرار (dysuria) بدون تب بود. اطلاعات مربوط به سن ، جنس، سابقه قبلی عفونت، آنتی بیوتیک‌هائی که بیمار اخیراً مصرف کرده بود و سابقه بستری شدن طی ۲۸ روز گذشته برای تمام بیمارانی که دارای UTI اکتسابی از جامعه بودند با پرسش نامه جمع آوری شدند. معیار حذف بیمار از مطالعه شامل موارد ابتلا به عفونت‌های بیمارستانی بود. یعنی عفونت‌هائی که ۴۸ ساعت بعد از پذیرش و یا طی چهار هفته پس از ترخیص قبلی مشاهده شده بودند.

جدا سازی سویه‌ها: سویه‌های *اشریشیا کلی* از نمونه های ادراری جدا و با استفاده از روش‌های استاندارد متداول شناسائی شدند (۸). معیار آزمایشگاهی UTI حاد با *اشریشیا کلی* شامل یک کشت مثبت با تعداد کلنی حداقل 10^5 کلنی در هر میلی لیتر ادرار بود. سپس سویه‌های جدا شده برای آزمایش‌های بعدی تجدید کشت شدند (۹و۱۰).

استخراج DNA : سویه‌های *اشریشیا کلی* به مدت یک شبانه روز در محیط leuria Bartauni broth در°C ۳۷ کشت داده شدند. سپس باکتری‌ها از محیط‌های مایع ته نشست و جدا گردید، در آب مقطر استریل مجدداً به‌صورت سوسپانسیون در آمد و به مدت ۱۰ دقیقه در°C ۹۵ جوشانده شد. پس از سانتریفوژ، مایع روئی به‌عنوان الگوی DNA تا انجام آزمون PCR در °C۲۰- نگهداری شد.

آزمون PCR :تشخیص ژن‌های*hly* , *pap* , *sfa* ,*cnf*-1 با استفاده از پرایمرهائی انجام شد که قبلاًگزارش شده بودند (۱۱) و از TIB MOLBIOL syntheselabor GmbH (Berlin, Germany) تهیه گردیدند. توالی این پرایمرها همراه با توضیحات مربوطه در جدول ۱ آمده است. دیگر آنزیم‌ها و مواد شیمیائی از کمپانی Cinnagen chemical تهران تهیه شدند. تکثیر در دستگاه Thermal cycler (اپندرف آلمان) براساس روش ارائه شده توسط Yamomoto و همکارانش انجام شد (۱۲). متناسب با اندازه قطعه مورد تکثیر، الکتروفورز درژل آگارز ۱/۵ درصد و در کنار یک مارکر 100 bp DNA ladder (MBI, fermentas , Lithuria) انجام پذیرفت.

تجزیه و تحلیل آماری : اطلاعات با نرم افزار windows spss (version 11.5) پردازش شدند. برای متغیرهای پارامتریک و غیر پارامتریک از آمار توصیفی و برای ارزیابی ارتباط متغیرها از

آزمـون‌هـای t student و chi square و logic regression استفاده شد.

جدول ۱: ترادف پرایمرهای بکار رفته برای تکثیر ترادف‌های ژنی در سویه‌های اشریشیاکلی جدا شده از نمونه‌های ادراری

ژن و ناحیه مورد نظر	پرایمر	ترادف پرایمر ($5^{/}$-$3^{/}$)	اندازه محصول PCR (bp)
hly	F	AACAAGGATAAG CAC TGT TCT GGC T	۱۱۷۷
	R	ACC ATA TAA GCG GTC ATT CCC GTC A	
cnf-1	F	AAG ATG GAG TTT CCT ATG CAG GAG	٤۹۸
	R	CAT TCA GAG TCC TGC CCT CAT TAT T	
pap	F	GAC GGC TGT ACT GCA GGG TGT GGC G	۳۲۸
	R	ATA TCC TTT CTG CAG GGA TGC AAT A	
sfa	F	CTC CGG AGA ACT GGG TGC ATC TTA C	٤۱۹
	R	CAT CAA GCT GTT TGT TCG TCC GCC G	

یافته‌ها:

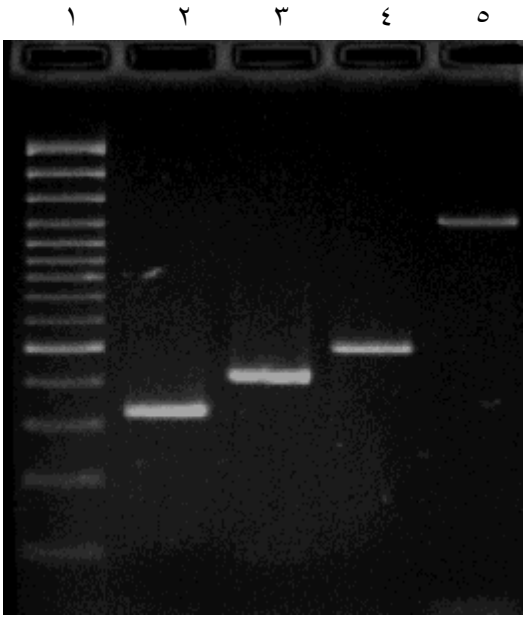
بیماران و سویه‌های *اشریشیا کلی* : از ۱۰۱ کودک مبتلا بـه UTI که ۶۵ نفر (۶۲/۵٪) دختر و ۳۶ نفر (۳۷/۵٪) پسر بودنـد ۹۶ سـویه *اشریشیا کلی* جدا شـد. دامنـه سـنی بیمـاران از ۱ مـاه تـا ۱۴ سـال (میانگین ۲۶/۹±۲۱/۸ماه) بود. در بیماران مبتلا بـه *E coli*، در ۴۶ نفـر (۴۷/۹٪) سیـستیت و در ۵۰ نفـر(۵۲/۱٪) پیلونفریـت حـاد تشخیص داده شد. شیوع پیلونفریت در دختران در مقایسه با پـسران بیشتر بـود: ۶۳/۲٪ درمقایـسه بـا ۳۶/۴ ٪ (P=0.04). از میـان ایـن بیماران فقط ۳۷ نفر سونوگرافی شـده بودنـد کـه ۱۴ نفـر (۳۷/۸٪) دارای یافته‌های غیـر طبیعـی همچـون بازگـشت ادرار, اسـتنوزییس UPJ (Ureteropelvic junction stenosis) ، کلیـه چنـد کیستی و یا کلیه منفرد بودند (جدول ۲).

شیوع ژن‌های ویرولانس : در تجزیه و تحلیـل واکـنش زنجیـره‌ای پلیمراز (شکل ۱) طیف شیوع ژن‌های ویرولانس از ۱۳/۵٪ برای *hly* تا ۲۷/۱٪ برای *pap* متغیر بود. از دو ژن کـد کننـده ادهـزین مورد مطالعه، *pap* در مقایسه با *sfa* در تعداد بیشتری از سـویه‌هـا شناسائی شد(۲۷/۱٪، n=۲۶، در مقایـسه بـا ۱۴/۶٪،n=۱۴). امـا از دو ژن تحت بررسی کد کننده توکـسین، *cnf-1* بـا شـیوع ۲۲/۹٪ (n=۲۲) نسبت به *hly* با شیوع ۱۳/۵٪ (n=۱۳) فراوان‌تر بود.

۳۳/۳٪ (n=۳۲) از ایزوله‌هـا بـرای حـداقل یـک ژن و ۶/۳٪ (n=۶) برای هر چهار ژن مثبت بودند. نتایج ارتباط معنی داری بین سن بیمار و حضور ژن‌ها را نشان دادند. در بیمارانی که سن آنها بالاتر از ۳۶ ماه بود فراوانی ژن‌های *pap* , *sfa* بیشتر بود درصورتی کـه در گروه سنی پائین‌تـراز ۴۸ مـاه ژن *hly* متـداول‌تـر بـود (۶۶/۷٪ در مقایـسه بـا ۳۳/۳٪: P<o.o5) (جـدول ۲). در بیمـاران مبـتلا بـه سویه‌های *pap* , *sfa* ,*cnf*-1 و *hly* ، شیوع پیلونفریـت بیـشتر از سیستیت بـود. بـه‌طـوری کـه در ۸۵/۷٪، ۶۳/۳٪، ۶۲/۵٪ و ۶۶/۷٪ مواردی که به ترتیب برای ژن‌های *pap, sfa, cnf-1, hly* مثبـت بودند، موارد ابتلا به پیلونفریت تشخیص داده شد. همچنـین ارتبـاط معنـی داری بـین وجـود ژن *cnf-1* و یافتـه‌هـای غیـر عـادی در سونوگرافی بیماران وجـود داشـت. بـه نحـوی کـه در ۸۳/۳٪ از ایزوله‌های بیمارانی که ژن *cnf-1* تشخیص داده شـد یافتـه‌هـای غیر عادی در سونوگرافی گزارش گردید (P=0.019).

جدول ۲: شیوع ژن‌های ویرولانس در سویه های اشریشیاکلی جدا شده از گروه‌های مختلف کودکان مبتلا به عفونت‌های ادراری

فاکتور ویرولانس		یافته کلینیکی		سونوگرافی		جنس		سن بر حسب ماه			
		پیلونفریت	سیستیت	نرمال	غیر نرمال	مذکر	مونث	<۳۶	>۳۶	<۴۸	>۴۸
pap	+ (%)	۶۶/۷	۳۳/۳	۶۲/۵	۳۷/۵	۴۱/۷	۵۸/۳	۷۵	۲۵	---	---
	- (%)	۴۶/۵	۵۳/۵	۵۴/۵	۴۵/۵	۳۳/۳	۶۶/۷	۸۷/۵	۱۲/۵	---	---
sfa	+ (%)	۶۲/۵	۳۷/۵	۳۳/۳	۶۶/۷	۳۳/۳	۶۶/۷	۶۴/۳	۳۵/۷	---	---
	- (%)	۵۰	۵۰	۵۹/۳	۴۰/۷	۳۵/۹	۶۴/۱	۸۷/۸	۱۲/۲	---	---
cnf-1	+ (%)	۶۳/۶	۳۶/۴	۱۶/۷	۸۳/۳	۳۵	۶۵	۶۶/۷	۳۳/۳	---	---
	- (%)	۴۸/۷	۵۱/۳	۷۲/۴	۲۷/۶	۳۵/۷	۶۴/۳	۸۹/۶	۱۰/۴	---	---
h ly	+ (%)	۸۵/۷	۱۴/۳	۱۰۰	۰	۵۰	۵۰	---	---	۶۶/۷	۳۳/۳
	- (%)	۴۷/۱	۵۲/۹	۶۱/۸	۳۸/۲	۳۳/۳	۶۶/۷	---	---	۸۹/۵	۱۰/۵



شکل ۱: نتایج PCR برای تشخیص ژن‌های ویرولانس در ۴ سویه اشریشیاکلی جدا شده از نمونه ادرار کودکان مبتلا به عفونت ادراری
ردیف ۱: مارکر وزن مولکولی (100-bp plus ladder)، ردیف ۲: (۳۲۸–bp) *pap* ، ردیف ۳: (۴۱۹–bp) *sfa*،
ردیف٤: (۴۹۸–bp) *cnf-1*، ردیف ٥: (۱۱۷۷–bp) *hly*

بحث :

درباره شیوع ژن‌های ویرولانس *اشریشیاکلی* که از بیماران مبتلا به UTI جدا شده اند، تحقیقات مختلفی صورت گرفته است. در یک بررسی در اسپانیا نشان داده شد که ۷۰ درصد سویه‌های جدا شده حامل حداقل یکی از ژن‌های ویرولانس مورد نظر هستند (۱۳). Silveria و همکارانش شیوع فنوتیپ های (afa^+-sfa^+-pap^+) ، sfa^+ و pap^+-sfa^+ را در سویه‌های ادراری *اشریشیا کلی* به ترتیب شیوع ۳۸/۴۶درصد، ۱۵/۳۸ درصد و ۷/۶۹ درصد گزارش کردند. در حالی که برای ژن *cnf*-1 تنها دو مورد مثبت گزارش گردید (۱۴). Arrisoy با بررسی ۱۶۱ سویه *اشریشیا کلی* جدا شده از کودکان مبتلا به عفونت مجاری ادراری نشان داد ۵۸/۳۸ درصد سویه‌هابرای حداقل یکی از ژن‌های ویرولانس مثبت بوند. فراوانی ژن‌های*hly, sfa, cnf-1, pap* درکل ایزوله‌ها به ترتیب ۲۲/۹۸، ۹/۹۴، ۶/۲۱ و ۱/۲۴ درصد بود (۱۱) . ما نیز در مطالعه حاضر ژن‌های *sfa, cnf*-1, *pap* و*hly* را به ترتیب در ۲۷/۱ درصد ، ۲۲ درصد ، ۱۴/۶ درصد و ۱۳/۵ درصد از سویه‌های *اشریشیا کلی* یافتیم. آنچه که در بررسی‌ها مهم و بارز به نظر می‌رسد وجود شاخص‌تر ژن *pap* در مقایسه با سایر فاکتورها است. این یافته شاید دلالت بر نقش کلیدی این فاکتور ویرولانس در UTI ناشی از سویه‌های *اشریشیا کلی* داشته باشد. در سویه های *اشریشیا کلی* عامل عفونت ادراری به وضوح وجود پیلیP به‌عنوان فاکتور ترغیب کننده کلونیزاسیون و تهاجم شناخته شده است. اتصال باکتری به مخاط مثانه مرحله حیاتی و اصلی برای ایجاد عفونت ناشی از *اشریشیا کلی* است (۱۵و۱۶). در واقع نقش ژن‌های کلاس دو *pap* در ظهور باکتریوری *اشریشیا کلی* در بیماران مبتلا به UTI نسبت به بیماران مبتلا به کلانژیت حاد چشمگیرتر است (۱۷).

اهمیت نقش ادهزین های *pap* در پاتوفیزیولوژی پیلونفریت ناشی از *اشریشیا کلی* در بسیاری از مطالعات گزارش شده است (۲۱-۱۸). در مطالعه حاضر نیز ابتلاء به پیلونفریت در ارتباط با ایزوله های *اشریشیا کلی* که دارای ژن‌های ویرولانس بودند از فراوانی بیشتری برخوردار بود. ۶۶/۶ درصد، ۶۲/۵ درصد، ۶۳/۳ درصد و۸۵/۷ درصد از بیمارانی که به ترتیب‌از لحاظ ژن‌های *hly, cnf-1, sfa, pap* مثبت بودند به پیلونفریت مبتلا بودند. دریک بررسی ۲۵ مورد از ۴۲ مورد پیلونفریت از لحاظ ژن *pap* مثبت بودند، اما تنها ۶ سویه از ۵۸ سویه جداشده از بیماران مبتلا به سیستیت برای این ژن مثبت بودند. در این بررسی میزان فراوانی *hly* و*cnf-1* دربیماران مبتلا به پیلونفریت به ترتیب ۳۴ درصد و ۲۱/۹ درصد بودند (۲۲). Chatal و همکاران نشان دادند که اپرون‌های *pap* در ۷۹/۴٪ از سویه های جدا شده از پیلونفریت یافت شدند، که یا به تنهائی (در ۵۱/۵ درصد نمونه ها) ویا همراه با اپرون *afa* ویا اپرون *sfa/foc* بودند (در ۲۷/۹ درصد از نمونه‌ها). مشاهدات، فراوانی بالای اپرون های *pap* را درمیان سویه‌های *اشریشیا کلی* مرتبط با بروز پیلونفریت تائید کرد. همچنین نشان دادند که اپرون‌های*afa* و *sfa/foc* از شاخص‌های uropathogenic هستند (۲۳). نشان داده شده است که توانائی اتصال به سطوح اپی‌تلیال نقش پیش شرط ولازم را در کلونیزاسیون مجاری ادراری دارد، که می‌تواند در غیاب ناهنجاری‌های اورولوژیک منجر به UTI شود. بررسی بیماران مبتلا به پیلونفریت حاد نشان داد که ناهنجاری‌های مجاری ادراری ویا مداخلات داروئی درمانی ممکن است که به ارگانیسم‌های غیر پاتوژن اجازه ورود و دسترسی به کلیه‌ها را بدهد (۲۴). بر همین اساس برخی از محققین فرض می‌کنند که نبود ویژگی‌های چسبندگی در سویه‌های *اشریشیا کلی* جدا شده از بیماران مبتلا به پیلونفریت می‌تواند به‌عنوان یک شاخص وجود ناهنجاری‌های آناتومیک زمینه‌ای یا بیماری‌های بالینی، مورد استفاده قرار گیرد. لذا، چنین وضعیتی می‌تواند ما را به سمت بررسی‌های بیشتر و تکمیلی هدایت کند(۲۴) . در بررسی حاضر فراوانی *sfa* و *pap* در بیمارانی که درسونوگرافی کلیه آنها شواهد غیر طبیعی مشاهده می‌شد، کمتر بود اما فراوانی *cnf*-1 در این بیماران به صورت چشمگیر بیشتر بود (P=0.019).

نتیجه گیری:

مطالعه حاضر گزارشی از ژن‌های ویرولانس (*pap* , *sfa*, *hly*, *cnf*-1) در سویه های *اشریشیا کلی* بیماریزای ادراری از جنوب ایران است که با دستاوردهای بسیاری از کشورهای دیگر مطابقت دارد. به دلیل شیوع بیشتر پیلونفریت درحضور این ژن‌ها، تشخیص سریع آنها در نمونه های ادراری می تواند به قطعیت بیشتر و مدیریت سریع‌تر پیلونفریت کمک کند. مع‌هذا، فقدان ویژگی‌های اتصال در سویه *اشریشیاکلی* که از یک بیمار مبتلا به پیلونفریت جدا شده است بررسی و مطالعه بیشتر آن بیمار را توجیه می سازد.

فهرست مراجع:

1.Gruneberg RN. Antibiotic sensitivities of urinary pathogens, 1971-82. J. *Antimicrob Chemother* 1984; **14**(1): 17-23.

2.Kunin CM. *Urinary tract infections: detection, prevention, and management.* 5th ed. Baltimore; Md: Williams & Wilkins; 1997; PP: 241-242.

3.Le Bouguenec, Archambaud M, Labigne A. Rapid and specific detection of the *pap*, afa, and *sfa* adhesion-encoding operons in uropathogenic *Escherichia coli* strains by polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 1992; **30**(5): 1189–93.

4.Johnson JR. Virulence factors in *Escherichia coli* urinary tract infection. *Clin Microbiol Rev* 1991; **4**(1): 80–128.

5.Soto M , Jimenez de Anta MT, and Vila J. Quinolones Induce Partial or Total Loss of Pathogenicity Islands in Uropathogenic *Escherichia coli* by SOS-Dependent or -Independent Pathways, Respectively. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; **50**(2): 649–53.

6.Donnenberg MS, Welch RA. Virulence determinants of uropathogenic *Escherichia coli*. In: Mobley HLT, Warren JW, eds. *Urinary Tract Infections: Molecular Pathogenesis and Clinical Management.* Washington; American Society for Microbiology. 1996; PP: 135–174.

7.Orskov I, Orskov F. *Escherichia coli* in extra-intestinal infections. *J Hyg* 1978; **95**(2): 551– 75.

8.Farmer JJ. Enterobacteriaceae: introduction and identification. *Manual of clinical microbiology*. 7th ed. Washington; ASM Press, 1999; PP: 442-58.

9.Blanco M, Blanco JE, Alonso MP, Mora A, Balsalobre C, Muñoa F, *et al*. Detection of *pap*, *sfa* and *afa* adhesion-encoding operons in uropathogenic *Escherichia coli* strains: relationship with expression of adhesions and production of toxins. *Res Microbiol* 1977; **148**(9): 745-55.

10.Le Bouguenec C, Archambaud M, Labigne A. Rapid and specific detection of the *pap*, *afa*, and *sfa* adhesion-encoding operons in uropathogenic *Escherichia coli* strains by polymerase chain reaction. *J clin Microbiol* 1992; **30**(5): 1189-93.

11.Arisoy M, Aysev D, Ekim M, Özel D, Köse SK, Özsoy ED, *et al*. Detection of virulence factors of *Escherichia coli* from children by multiplex polymerase chain reaction. *Int J Clin Pract* 2006; **60**(2):170-3.

12.Yamamoto S, Terai A, Yuri K, Kurazono H, Takeda Y, Yoshida O. Detection of urovirulence factors in *Esherichia coli* by multiplex polymerase chain reaction. *FEMS Immunol Med Microbio*l 1995; **12**(2): 85– 90.

13.National Institute of Research and Development for Microbiology and Immunology. Comparison of genomic profiles of *Escherichia coli* isolates from urinary tract infections. *Roum Arch Microbiol Immunol* 2003; **62**(3-4):137-54.

14.Silveira WD, Benetti F, Lancelotti M, Ferreira A, Solferini VN, Brocchi M. Biological and genetic characteristics of uropathogenic *Escherichia coli* strains. *Rev Inst Med trop* 2001; **43**(6): 345-50.

15.Wullt B. The role of P fimbriae for *Escherichia coli* establishment and mucosal inflammation in the human urinary tract. *Int J Antimicrob Agents* 2003; **21**(6):605-21.

16.Wullt B, Bergsten G, Connell H, Röllano P, Gebratsedik N, Hang L, *et al*. P-fimbriae trigger mucosal responses to *Escherichia coli* in the human urinary tract. *Cell Microbiol* 2001; **3**(4):255-64.

17.Wang MC, Tseng CC, Chen CY, Wu JJ, Huang JJ. The role of bacterial virulence and host factors in patients with *Escherichia coli* bacteremia who have acute cholangitis or upper urinary tract infection. *Clin Infect Dis* 2002; **35**(10): 1161– 6.

18.Gander RM, Thomas VL, Forland M. Mannose-resistant hemagglutination and P receptor recognation of uropathogenic *Escherichia coli* isolated from adult patients. *J Infect Dis* 1985; **151**(3):508–13.

19.Norgren M, Båga M, Tennent JM, Normark S. Nucleotide sequence, regulation and functional analysis of the *pap*C gene required for cell surface localization of *Pap* pili of uropathogenic *Escherichia coli*. *Mol Microbiol* 1987; **1**(2):169–78.

20.O'Hanley P, Low D, Romero I, Lark D, Vosti K, Falkow S, et al. Gal-Gal binding and hemolysin phenotypes and genotypes associated with uropathogenic *Escherichia coli*. *N Engl J Med* 1985 ; **313**(7): 414–20.

21.Westerlund B, Kuusela P, Risteli J, Risteli L, Vartio T, Rauvala H, *et al*. The O75X □dhesion of uropathogenic *Escherichia coli* is a type IV collagen-binding protein. *Mol Microbiol* 1989; **3**(3): 329–37.

22.Vila J, Simon K, Ruiz J. Are Quinolone-Resistant Uropathogenic *Escherichia coli* Less Virulent? *J Infect Dis* 2002; **186**(7):1039-42.

23.Le Bouguenec C, Archambaud M, Labigne A. Rapid and specific detection of the *pap*, afa, and *sfa* adhesion-encoding operons in uropathogenic

Escherichia coli strains by polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 1992; **30**(5): 1189– 93.

24. Lomberg H, Hellstrom M, Jodal U, Leffler H, Lincoln K, Svanborg-Eden C. Virulence-associated traits in *Escherichia coli* causing first and recurrent episodes of urinary tract infection in children with or without vesicoureteral reflux. *J Infect Dis*. 1984; **150**(40): 561-69.