تحقیقی

توزیع فراوانی ژنهای کد کننده فیمبریه در *E.coli* جداشده از بیماران مبتلا به عفونت دستگاه ادراری

علی ناظمی
استادیار ، گروه بیولوژی ، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن

مهسا نادری
کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن

مصطفی جعفرپور
استادیار ، گروه بیولوژی ،دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن

میرساعد میری نرگسی
استادیار ، گروه بیولوژی ، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن

شهرآشوب شریفی
کارشناسی ارشد بیولوژی پزشکی، دانشکده پزشکی ، دانشگاه آنکارا ، ترکیه

نویسنده مسئول: علی ناظمی

تلفن : 09126051565

پست الکترونیک:alinazemy@yahoo.com

آدرس : مازندران، تنکابن، ولی آباد، مجتمع آموزشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن، گروه بیولوژی

وصول مقاله: 90/2/26
اصلاح نهایی: 90/5/15
پذیرش مقاله:90/5/23

چکیده

زمینه و هدف: *توانایی اتصال به سطوح میزبانی جزء اساسی ترین مراحل در کلونیزاسیون موفق پاتوژنهای میکروبی می باشد. سویه های E.coli ایجادکننده عفونت دستگاه ادراری دارای تعداد زیادی فیمبریه مثل فیمبریه نوع I، P-فیمبریه، S-فیمبریه، FIC فیمبریه، Dr فیمبریه و ادهسین های افیمبریال می باشند، این مطالعه با هدف تعیین فراوانی ژن های کد کننده فیمبریه ها در اشرشیا کلی مولد عفونت ادراری در تهران انجام شده است.*

روش بررسی: *در این تحقیق 363 نمونه ادراری از افراد مبتلا به عفونت دستگاه ادراری در طی سالهای 89-87 از آزمایشگاههای بالینی غرب تهران جمع آوری شد. با استفاده از روشهای بیوشیمیایی استاندارد E.coli بودن 200 نمونه تایید گردید. پس از استخراج DNA از نمونه ها به روش Boiling ، حضور ژنهای فیمبریا afa, foc, pap, sfa, fim به روش PCR مورد بررسی قرارگرفت.*

یافته‌ها: *میزان شیوع ژنهای فیمبریه fim, foc, afa, sfa, pap در بین 200 سویه به ترتیب 188(94%)، 34(17%)، 20(10%)، 62(31%)، 71(35,5%) تعیین گردید.*

نتیجه گیری: *نتایج این مطالعه نشان داد که ژن fim و pap شایعترین ژنهای کد کننده فیمبریه در اشرشیا کلی های جدا شده از عفونت ادراری در شهر تهران می باشد. این مسئله می تواند اطلاعاتی در رابطه با اهمیت آنها درآسیب شناسی عفونت ادراری، مدیریت UTI و راهکارهای درمانی همانند تولید واکسن های نوین فراهم آورد.*

واژه های کلیدی: *عفونت ادراری ، فیمبریه،اشرشیا کلی*

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

E.coli جزء فلور نرمال دستگاه گوارش انسان و حیوانات خونگرم محسوب می شود (1و2). این باکتری ها اگرچه معمولاً بی ضرر می باشند، چندین سویه از *E.coli* عوامل ژنتیکی(ژنهای ویرولانس) را به دست آورده اند که به آنها خاصیت بیماریزایی برای انسان و حیوان می بخشد(3و4). این پاتوژنها مسئول ایجاد چند نوع عفونت بالینی مثل بیماریهای انتریک و اسهالی، عفونتهای دستگاه ادراری ، سپسیس و مننژیت. براساس خصوصیات بیماریزایی هر کدام از آنها و علائم بالینی میزبان، سویه های بیماریزای *E.coli* به چندین گروه یا پاتوتایپ تقسیم می شوند(5).

عفونتهای Extraintestinal (خارج روده ای) به وسیله سه پاتوتایپ مجزا از *E.coli* ایجاد می شوند: 1)سویه های UPEC(uropathogenic *E.coli*) که عفونت های دستگاه ادراری را در انسان، سگ و گربه ایجاد می کند(3و6)، 2)سویه های مسئول در ایجاد مننژیت نوزادی(MENEC) (3و7) ، 3)سویه هایی که سپتی سمی را در انسان و حیوان ایجاد می کنند(8و9).

UPEC عامل اولیه عفونت دستگاه ادراری (UTI) در کشورهای توسعه یافته است(6و9و10و11). UTI جزء رایجترین بیماریهای عفونی انسان محسوب می شود (12). در ایالات متحده آمریکا(USA) هر ساله 1/6 میلیون دلار هزینه صرف درمان این عفونت ها می گردد. تخمین زده می شود که 50-40% از زنان سالم بالغ در طول دوره زندگی خود حداقل یکبار UTI را تجربه می کنند(13). این بیماری عفونی معمولاً با عفونت مثانه شروع می شود اما اغلب با فرا گرفتن کلیه ها توسعه پیدا می کند و سرانجام ممکن است منجر به نارسایی کلیوی شود و حتی به خون هم راه یابد(11).

توانایی UPEC برای ایجاد عفونت علائم دار دستگاه ادراری به دلیل وجود دو نوع عامل ویرولانس می باشد: ادهسین ها (مثل فیمبریه نوع I ، P-فیمبریه،S-فیمبریه، F1C-فیمبریه و...)و توکسین ها(مثل همولیزین، فاکتور نکروز دهنده تومور) (11و14و15).

اتصال به اپی تلیوم دستگاه ادراری اولین مرحله UTI می باشد و این باعث می شود تا باکتری نسبت به نیروهای هیدرودینامیک جریان ادرار مقاوم باشد(5) و این موضوع باعث افزایش یافتن توانایی آنها برای تکثیر و تهاجم به بافت کلیوی می گردد(12و14).

UPEC دارای فاکتورهای اتصالی هستند به نام پیلی یا فیمبریه، که به آنها اجازه می دهد تا به طور موفقیت آمیزی عفونت را آغاز کنند (12). ادهسین ها آنتی ژنهای فیمبریالی هستند که باکتری را قادر می سازند تا به موکوس روده متصل شود(16). از ادهسین های معمول موجود در UPEC می توان به P فیمبریا، فیمبریا نوع1، S فیمبریا، F1C فیمبریا و خانواده ادهسین Dr (17) که شامل ادهسین Dr وادهسین های افیمبریال می باشد، نام برد (18).این فیمبریاها، به ترتیب، توسط ژنهای *pap*, *fim* ,*sfa* ,*foc*, *afa* کد می شوند(19). در UPEC، فیمبریا نوع 1 مهمترین عامل حدت است. تعدادی از اعضای خانواده انتروباکتریاسه این ژن را تولید می کنند. فیمبریه نوع 1 به وسیله بیش از 90% سویه های *E.coli* بیان می شود. این فیمبریه اتصال به گلیکوپروتئین های ترشح شده و گلیکوپروتئین های مانوزیله شده ای را که به سلول متصل شده اند وساطت می کند.P- فیمبریه؛ ضمائم هتروپلی مریک سخت میله مانندی هستند که از سطح سلول *E.coli* بیرون زده اند و نشان داده شده است که در بیشتر از 70% *اشرشیاکلی* پیلونفریتوژنیک حضور دارد(20).F1C فیمبریه به وسیله کلاستر ژن *foc* کد می شود، یک فاکتور اتصالی غیر هماگلوتینه کننده است که به وسیله تقریباً 14% از *E.coli* ایجاد کننده عفونت دستگاه ادراری و 7% از سویه های مدفوعی *E.coli* بیان می شود. این فیمبریه از نظر ژنتیکی مشابه S فیمبریه است اما از نظراختصاصیت رسپتورها شان با یکدیگر متفاوتند(21). S-فیمبریه به رسپتورهای حاوی بخش های قندی اسید سیالیک متصل می شود و در *E.coli* ایجاد کننده سیستیس و پیلونفریت حضور دارد(17). افیمبریال ادهسین ها، از نظر خصوصیات مورفولوژی و بیوشیمیایی با دیگر

Archive of SID

www.SID.ir

ادهسین ها تفاوت دارند و توسط ژن *afa* کد می گردند و نشان داده شده است که در ایجاد عفونت دستگاه ادراری دارای نقش می باشند(11).

با توجه به شیوع عفونت ادراری در جامعه، ضرورت انجام غربالگری، تشخیص و درمان به موقع بیماران از اهمیت بالایی برخوردار می باشد. به این دلیل که با سهل انگاری در درمان این عفونت، مشکلات جبران ناپذیری در آینده برای بیمار و خانواده او رخ خواهد داد. بنابراین تحقیق حاضر با هدف بررسی میزان شیوع ژنهای فیمبریا، که جزء عوامل اولیه برای اتصال باکتری در دستگاه ادراری و ایجاد عفونت دستگاه ادراری(UTI) می باشند، صورت پذیرفته است. با دانستن میزان شیوع این ژنها در جامعه و با توجه به نقش مهم و ضروری آنها در ایجاد عفونت می توان به فکرطراحی واکسن هایی علیه این فیمبریه در باکتری UPEC افتاد.

روش بررسی

از 363 فرد مشکوک به عفونت دستگاه ادراری که در طی سالهای 89-1387 به چندین آزمایشگاه واقع در غرب تهران مراجعه نموده بودند، خواسته شد که طبق دستور العمل استاندارد پس از شستشوی اندام تناسلی و خشک کردن، نمونه جمع آوری گردد. سپس به منظور جداسازی *E.coli* ، هرکدام از نمونه ها به طور مجزا در محیطهای کشت مکانکی، بلادآگار و EMB کشت داده شدند و با تست های بیوشیمیایی استاندارد مورد آنالیز قرار گرفتند. کشت ادرار زمانی مورد توجه بود که تعداد 10^5 *cfu/ml* در محیط کشت رشد کرده باشد(22). پس از انجام این کار مشخص گردید که 200 نمونه حاوی باکتری*E.coli* می باشد. سپس *DNA* این باکتری ها با استفاده از روش *Boiling* استخراج گردید، بدین صورت که مقداری کلونی از این باکتری برداشته شد و در آب دیونیزه وارد و به مدت 5 دقیقه در$°C$ 95 جوشانیده شد و پس از سانتریفوژ، محلول رویی به عنوان *DNA* الگو در 20- سانتی گراد به منظور انجام واکنش *PCR* نگهداری شد. آشکار سازی ژن های *afa*, *foc*, *sfa*, *pap*, *fim* با استفاده از تکنیک *single-PCR* انجام شد. پرایمرهای مورد نیاز، برای ناحیه ادهسینی این ژنها طراحی گردید. تنها مورد استثنا پرایمر مربوط به ژن pap بود که با توجه به واریانت های مختلفی که ناحیه ادهسینی این ژن دارا می باشد(17)، برای ناحیه مربوط به Usher همین ژن طراحی شد. در هر واکنشsingle-PCR روی نمونه های مورد نظر به همراه کنترل مثبت و منفی اجراء شد. آنزیم ها و مواد شیمیایی مورد نیاز توسط شرکت سیناژن فراهم گردید. تکثیر در یک ترمال سایکلر(Eppendrof, Germany) بر طبق روش ارائه شده در جدول 2 صورت گرفت. سایز قطعات تکثیر شده مورد نظر با الکتروفورز در ژل آگارز 2% با استفاده از یک سایز مارکر اختصاصی(100 bp DNA ladder, MBI, Fermentas, Lithuania) مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته ها

پس از تست های بیوشیمیایی بر روی تمامی 363 نمونه ادراری، مشخص گردید که 200 نمونه حاوی *E.coli* می باشند. سپس با انجام واکنش PCR بر روی DNA های استخراج شده از این نمونه ها، مشخص گردید که 188سویه(94%) fim^+ ، 62(31%) sfa^+، 34(17%) foc^+، 71 (35/5%) pap^+ و 20(10%)afa^+بودند. به طور جالب توجهی مشخص شد که تنها 1/5% از نمونه های مورد بررسی فاقد هر گونه ادهسین روی سطح خود هستند. از طرفی مشخص شد که از بین 200 نمونه،188 نمونه از نظر حضور ژن fim مثبت می باشند که در این بین 96 سویه تنها دارای ژن fim و مابقی علاوه بر این ژن دارای حداقل یکی از ژنهای pap, sfa, foc afa, هستند. در این مطالعه مشخص شد که ژن *sfa* در 62 نمونه(31%) وجود دارد. از بین 62 نمونه مثبت، 28(14%) به طور همزمان دارای اپران *pap* و*sfa* و 31 (15/5%) دارای اپران *sfa* و*afa* می باشند. نتیجه این مطالعه نشان داد که در بین سویه های مورد بررسی شیوع ژن *fim* بیشترین درصد آماری را به خود اختصاص داده است و در باقی سویه ها که فاقد این ژن می باشند، شیوع ژن *sfa* نسبت به دیگر ژن ها بالاتر است.

به منظور تأیید صحت تکثیر ژنها، محصول PCR برای تعیین توالی به شرکت Macrogene کره جنوبی ارسال گردید.پس از ردیف سازی توالی مربوط در nBlast، سایت NCBI، صحت قطعه مورد نظر تأیید گردید.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول 1. توالی پرایمرهای ژن‌های مورد نظر در اشرشیا کلی های جدا شده از عفونت ادراری در تهران

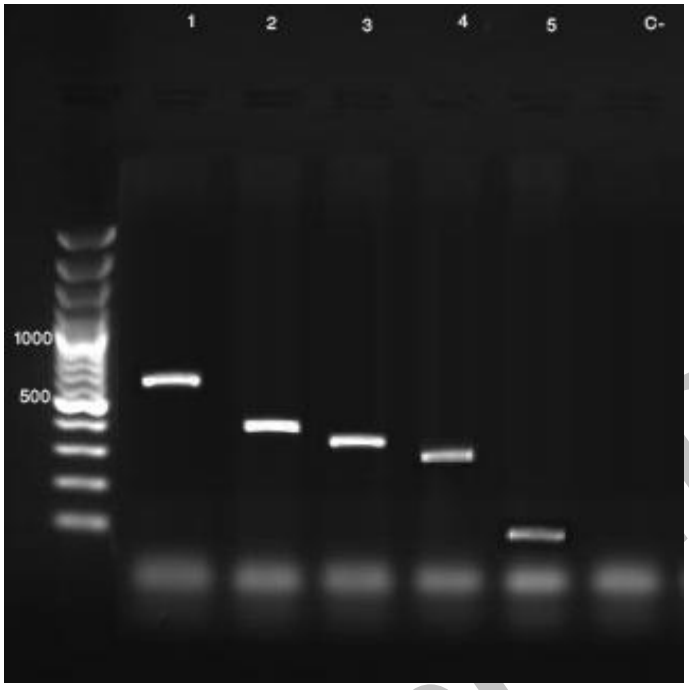
ژن	توالی پرایمر($3^{/}$ به $5^{/}$)	طول قطعه تکثیر شده(bp)	رفرنس
Fim	GTT GTT CTG TCG GCT CTG TC TAA ATG TCG CAC CAT CCA G	400	این مطالعه
Sfa	CCG TAA AGA TGT CTG CGA G AGC AAG TCT GGC AAC GAG	100	این مطالعه
Afa	GCT GGG CAG CAA ACT GAT AAC TCT C CAT CAA GCT GTT TGT TCG TCC GCC G	750	15
Foc	GGT GGA ACC GCA GAA AAT AC GAA CTG TTG GGG AAA GAG TG	388	23
pap	GAC GGC TGT ACT GCA GGG TGT GGC G ATA TCC TTT CTG CAG GGA TGC AAT A	328	15

جدول 2. مقدار مواد مورد استفاده برای PCR ژن‌های مورد نظر در اشرشیا کلی های جدا شده از عفونت ادراری در تهران

Genes	template DNA(µl)	$MgCl_2$(mM)	each of the four dNTPs(mM)	DMSO	Total volume	Primer(pmol)
fim	3	2	0.4	-	25	10
sfa	3	2	0.4	-	25	10
afa	3	2.3	0.2	-	25	20
foc	5	2	0.2	5%	30	100
pap	1	1.5	0.2	-	25	20

Archive of SID

www.SID.ir



تصویر 1. نتیجه تکثیر ژنهای مورد بررسی. خطوط 1 تا 5 به ترتیب مربوط به ژنهای *afa*، *fim*، *foc*، *pap*، *sfa* می باشند و تصویر سمت چپ سایز مارکر 100 جفت بازی را نشان می دهد.

جدول3. نتایج حضور ژنهای *fim*، *foc*، *pap*، sfa، afa از طریق PCR در اشرشیا کلی های جدا شده از عفونت ادرار در شهر تهران

Virulence factor gene	Number of positive isolates(%)
fim	188(94%)
sfa	62(31%)
afa	20(10%)
foc	34(17%)
pap	71(35.5%)

Archive of SID

www.SID.ir

بحث

اشرشیا کلی به عنوان یک عامل ایجاد کننده عفونت دستگاه ادراری در انسان محسوب می شود. در اکثر موارد کلونهای یوروپاتوژنیک در مدفوع وجود دارند و تصور می گردد که توانایی بالقوه برای پاتوژنیک بودن سویه های *E.coli* ، وابسته به حضور فاکتورهای ویرولانس باشد(19و24و25). دانشمندان بر این باورند که اولین مرحله در ایجاد عفونت دستگاه ادراری، اتصال باکتری به یوروواپیتلیوم می باشد. در موارد زیادی نشان داده شد که فیمبریه واسطه این اتصال است(13). از ادهسین های معمول موجود در *UPEC* میتوان بهP فیمبریا، فیمبریا نوع1، S فیمبریا، F1C فیمبریا و خانواده ادهسین Dr که شامل ادهسین Dr وادهسین های افیمبریال میباشد، نام برد(19). در مطالعه حاضر ما از یک روش ژنوتیپی برای مطالعه حضور ژنهای ویرولانس *E.coli* یوروپاتوژنیک استفاده کردیم. PCR یک روش ژنوتیپی خیلی اختصاصی، قدرتمند و موثر می باشد که برای آشکار سازی اپرانهای کد کننده ادهسین و دیگر فاکتورهای ویرولانسی که می توانند روی ویرولانس UTI اثر بگذارند، استفاده می شود. ما در این مطالعه دریافتیم که شیوع ژنهای ویرولانس فیمبریا *fim, pap, sfa, afa, foc* به ترتیب، 94%، 35/5%، 31%، 26/5%، 17% می باشد. این یافته ها با نتایج به دست آمده از ریبریو و همکارانش در سال 2008 مطابقت دارد .آنها عنوان کردند که شیوع ژنهای *fim*، *pap*، *sfa*، *afa* در بین 162 نمونه، به ترتیب 97/5%، 32/7%، 27/8%، 6/2% می باشد. در مطالعه ای که توسط لان و همکارانش در سال 2007 در دانشگاه میشیگان انجام شد، مشخص گردید که فیمبریه نوع I به مقدار زیادی در طول عفونت دستگاه ادراری بیان می گردد که این بیان می تواند منجر به کاهش حرکت در این باکتری گردد و این موضوع به عنوان یک عامل مهم در عفونت، بویژه در 24 ساعت از زمان کلونیزاسیون در مثانه، تلقی می گردد(25). بعلاوه ما مشاهده کردیم که 90 سویه *fimH* مثبت، دارای حداقل یکی از ژنهای *pap,sfa,foc,afa* می باشند. این نتیجه با نتیجه ارائه شده توسط جانسون و همکارانش در سال 2005 مطابقت دارد(26).آنها عنوان کرده بودند که *fimH* در ارتباط با P-فیمبریه و S-فیمبریه می باشد. آریسوی *161* سویه *E.coli* را که از کودکان مبتلا به UTI جدا کرد و دریافت که4 /58% از سویه ها حداقل دارای یکی از ژنهای ویرولانس می باشند: مشخص شد که شیوع ژنهای *hly, sfa, cnf-I, pap* به ترتیب برابر است با 22/98%، 9/94%، 6/21%، 1/24% و با توجه به این موضوع که شیوع ژن *pap* در بین سویه های *E.coli* ایجاد کننده سیستیس پایین می باشد در نتیجه اکثر افراد مورد مطالعه در این تحقیق مبتلا به سیستیس بوده اند(7).

این مطالعه اهمیت وجود این ژنها را در سویه های UPEC نشان می دهد. با دانستن نقش مهم و کلیدی این ژنها در ویرولانس سویه های ایجاد کننده دستگاه ادراری و با وجود هزینه های زیادی که هر ساله برای درمان UTI بر جامعه و خانواده تحمیل می شود می توانیم به فکر طراحی واکسن علیه این بیماری باشیم. در این تحقیق بطور همزمان حضور 5 ژن فیمبریه مورد بررسی قرار گرفت. از آنجایی که اولین مرحله برای ایجاد عفونت اتصال باکتری می باشد و فیمبریه نقش مهم و کلیدی را برای اتصال فراهم می کند در نتیجه اهمیت و ضرورت انجام این تحقیق مشخص می شود. در این مطالعه مشخص گردید که ژن *fim* و*sfa* در بین افراد مورد مطالعه بیشترین درصد آماری را به خود اختصاص می دهند و این موضوع می تواند به عنوان یک نقطه عطفی باشد تا در مطالعات بعدی به فکر طراحی واکسن ترکیبی علیه این دو فیمبریه باشیم تا بدین طریق بتوانیم از ایجاد این عفونت در جامعه پیشگیری کنیم. برای دستیابی به اطلاعات جامع و ارزیابی دقیقتر پیشنهاد می شود که در تحقیقات دیگر حضور دیگر عوامل ویرولانس مثل توکسین ها، سیستم های جمع کننده آهن و ... نیز همراه با فیمبریه مورد بررسی قرار بگیرد تا بتوان مقایسه ای بین این فاکتورها انجام داد اما با توجه به این موضوع که اتصال اولین مرحله برای ایجاد عفونت می باشد ما در تحقیق خود به طور کامل حضور ژنهای دخیل در اتصال را مورد بررسی قرار دادیم.

Archive of SID

www.SID.ir

References

1-West DM, Sprigings KA , Cassar C, Wakeley PR, Sawyer J, and Davies RH. *Rapid detection of Escherichia coli virulence factor gene using multiplex real-time TaqMan1 PCR assays.* Vet Microbiol. 2007; 122: 323–33

2-Picard B, Garcia JS, Gouriou S, Duriez P, Brahimi N, Bingen E, Elion J, and Denamur E. *The Link between phylogeny and virulence in Escherichia coli extraintestinal infection.* Infect Immun. 2009 ; 546–553

3-Bekal S, Brousseau R, Masson L, Prefontaine G, Fairbrother J, and Harel J. *Rapid identification of Escherichia coli pathotypes by virulence gene detection with DNA microarrays*. J Clin Microbiol. 2003; 2113–2125

4-Ulett G, Mabbett A, Fung Kh, Webb R, and Schembri M. *The role of F9 fimbriae of uropathogenic Escherichia coli in biofilm formation*. J Microbiol. 2007 ; 2321-2331

5-Schwan W, Lee J, Lenard F, Matthews B, andBeck M. *Osmolarity and pH growth conditions regulate fim gene transcription and Type 1 pilus expression in uropathogenic Escherichia coli*. Infect Immun. 2002 ; 1391–1402

6-Welch RA, Burland V, Plunkett G, Redford P, Roesch P, Rasko D, et al. *Extensive mosaic structure revealed by the complete genome sequence of uropathogenic Esherichia coli* . Pans. 2002; 17020-17024.

7-Arisoy M, Aysev D, Ekim M, et al. *Detection of virulence factor of Escherichia coli from children by multiplex polymerase chain reaction*. J Clin Pract. 2006; 60:170-3

8-Ghanbarpour R,and Salehi M. *Determination of adhesin encoding genes in Escherichia coli isolates from omphalitis of chick*. J Vet Sci. 2010; 5(2): 84-89

9-Raksha R, Srinivasa H, and Macaden RS. *Occurrence and characterization of uropathogenic Escherichia coli urinary tract infections.* Indian J Med Microbiol. 2003; 21 (2): 102- 107.

10-Matiuzzi da Costa M, Drescher G, Maboni F, Weber Sh, de Avila Botton S, Henning Vainstein M, Schrank IS, and Castagna de Vargas A. *Virulence factors and antimicrobial resistance of Escherichia coli isolated from urinary tract of swine in southern of brazile* . Brazilian J Microbiol. 2008 ; 39:741-743.

11-Sorsa J. *Characterization of genomic diversity in extraintestinal pathogenic Escherichia coli (ExPEC) and development of a diagnostic DNA microarray for the differentiation of ExPEC isolates causing urinary tract infections.* Acad Disser Gene Microbiol. 2007 ;1-16.

12-Santo E, Macedo C, and Marin JM. *Virulence factors of uropathogenic Escherichia coli from a university hospital in ribeirao preto, sao paulo, brazile.* Inst Med Trop Sao Paulo. 2006; 48(4):185-188.

13-Snyder J, Haugen B, Lockatell CV, Maroncle N, Hagan E, Johnson D, Welch R, and Mobley H. *Coordinate expression of fimbriae in uropathogenic Escherichia coli*. Infect Immun. 2005 ;7588–7596

14-Alex P, Stouracova K, Hamric J, and Rychlik I. *Gene typing of the colonization K88(F4) in enterotoxigenic E.coli strains isolated from diarrhoeic piglets*. Vet Med- Czech .2001 ; 46-49.

15-Birosova E, Siegfried L, Kmetova M, Makara A, Ostro A, Gresova A, et al. *Detection of virulence factors in a-haemolytic Escherichia coli strains isolated from various clinical materials*. Clin Microbiol Infect. 2004;10: 569–573.

16-Blanco M, Leonel L, Blanco J, Dahbi Gh, Mora A, Cecilia L, González E, and Blanco J. *Serotypes, virulence genes, and PFGE patterns of enteropathogenic Escherichia coli isolated from Cuban pigs with diarrhea*. Int Microbiol. 2006; 9:53-60

17-Mulvey M. *Adhesion and entry of uropathogenic Escherichia coli* . Cell Microbiol. 2002; 4(5): 257–271.

18-Riberio M, Yano Tand Silva Leite D. *Genotypic characterization of virulence factors in Escherichia coli strains from patients with cystitis.* Inst Med trop Sao Paulo. 2008 ; 50(5):255-260.

19-Miyazaki J, Ba-Thein W, Kumao T, Obata Yasuoka M, Akaza H, and Hayshi H. *Type 1, P and S fimbriae, and afimbrial adhesin I are not essential for uropathogenic Escherichia coli to adhere to and invade bladder epithelial cells*. Immunol Med Microbiol. 2002; 33: 23-26.

20-Soderhall M. *The importance of Escherichia coli fimbriae in urinary tract infection.* Department of Nephrology. 2001; 1-8.

21-Khan AS, et al. *Receptor structure for F1C fimbriae of uroathogenic Escherichia coli*. Infect Immun. 2000; 68(6): 3541-3547.

22- Farshad Sh, and Emmamghorashi F. *The prevalence of virulence genes of E.coli strains isolated from children with urinary tract infection.* Saudi J Kidney Dis Transpl. 2009 ; 20(4):613-617.

23-Mitsumori K, Terai A, Yamamoto SH, and Yoshida O. *Identi¢cation of S, F1C and three PapG FImbrial adhesins in uropathogenic Escherichia coli by polymerase chain reaction*. FEMS Immunol Med Microbiol. 1998;21, 261-268.

24-Holoda E, Vu-KHac H, Andraskova S, CHomova Z, Wantrubova A, Krajnak M, and Pilipcine E. *PCR assay for detection and differentiation of K88ab$_1$, K88ab$_2$,K88ac,K88ad fimbrial dhesins in E.coli strains isolated from diarrheic piglets.* J Folia Microbiol. 2005; 50 (2).107-112.

25-Lane MC, Simms AN, Mobley HL. *Complex interplay between type 1 fimbrial expression and flagellum-mediated motility of uropathogenic Escherichia coli*. J Bact. 2007; 189: 5523-5533.

26-Johnson JR, Kuskowski MA, GajewskiA, et al. *Extended virulence genotypes and phylogenetic background of Escherichia coli isolates from patients with cystitis, pyelonephritis, or prostatitis*. J infect Dis. 2005; 191: 46-50.

Archive of SID

www.SID.ir