

Comparison of Virulence Factors, Phylogenetic Groups and Ciprofloxacin Susceptibility of *Escherichia coli* Isolated from Healthy Students and Patients with Urinary Tract Infections in Korea

Min Park¹, Soon Deok Park², Sa-Hyun Kim¹, Hyun Jun Woo¹, Gysang Lee¹, Hyun Woo Kim¹, Ji Young Yang¹, Eun Hee Cho¹, Young Uh² and Jong-Bae Kim^{1,†}

¹Department of Biomedical Laboratory Science, College of Health Science, Yonsei University, Wonju 220-710, Korea

²Department of Laboratory Medicine, Yonsei University Wonju College of Medicine, Wonju 220-710, Korea

Urinary tract infection (UTI) is one of the most common bacterial infections and is predominantly caused by uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC). UPEC strains generally possess several genes encoding virulent factors, which are mostly adhesins, toxins, bacteriocin and siderophores. *E. coli* is composed of four main phylogenetic group (A, B1, B2, D) and virulent extra-intestinal strains mainly belong to groups B2 and D. Prescription of ciprofloxacin, a kind of fluoroquinolone group antibiotics, is increasing now a days, but resistance to this drug is also increasing. A total of 188 strains of *E. coli* were collected. Thirteen strains were collected from healthy students in 2011 and 175 strains from patients with urinary tract infection in 2010. Virulence factor genes (*papC*, *fimG/H*, *sfaD/E*, *hlyA*, *cnf1*, and *usp*) were amplified by polymerase chain reaction (PCR) methods for phylogenetic group (A, B1, B2, D) detection. Ciprofloxacin susceptibility test was performed by disk diffusion method. The identified virulence factors (VFs), phylogenetic groups and ciprofloxacin resistance in 13 *E. coli* strains isolated from healthy students were *papC* (15.4%), *fimG/H* (76.9%), *sfaD/E* (30.8%), *hlyA* (23.1%), *cnf1* (23.1%), *usp* (7.7%), phylogenetic group A (23%), B1 (8%), B2 (46%), D (23%) and ciprofloxacin resistance (7.7%), while those of in 175 *E. coli* strains isolated from patients with UTI were *papC* (41.1%), *fimG/H* (92.5%), *sfaD/E* (30.3%), *hlyA* (10.3%), *cnf1* (30.3%), *usp* (27.4%), phylogenetic group A (9.1%), B1 (5.1%), B2 (60.6%), D (25.1%) and ciprofloxacin resistance (29.7%). In this study, 10 out of 13 *E. coli* strains (76.9%) from healthy students were found to possess more than one virulence factor associated with adhesion. In addition, one *E. coli* strain isolated from healthy students who had never been infected with UPEC showed ciprofloxacin resistance. According to these results between the virulence factors and phylogenetic groups it was closely associated, and UPEC strains isolated from patients showed high level of ciprofloxacin resistance.

Key Words: Uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC), Urinary tract infections (UTIs), Ciprofloxacin

서 론

요로감염 (urinary tract infection)은 가장 흔한 세균감염 중 하나이며, 무증상 세균뇨, 급성 방광염, 급성 신우

신염 등 다양한 질병 양상으로 나타난다 (Lee and Kim, 1996; Fhin et al., 2003). 비뇨기계 감염의 원인균으로는 *E. coli*, *Proteus* spp., *Enterobacter aerogenes* 등의 장내세균, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Klebsiella pneumoniae* 등으로 알려져 있으며 (DeBoy et al., 1988; Gupta et al., 2001), 요로감염을 유발하는 세균 중 *Escherichia coli*에 의한 요로감염이 70~90%로 가장 흔하고 원내감염 원인의 약 40%에 달한다 (Li et al., 2010). 특히 미국에서는 여성의 경우 40~50%에서 일생에서 한번 이상 *E. coli*에 의한 요로감염을 경험하는 것으로 알려져 있고, 이 중 약

*Received: 8 March, 2012 / Revised: 4 June, 2012

Accepted: 4 June, 2012

†Corresponding author: Jong Bae Kim. Department of Biomedical Laboratory Science College of Health Science, Yonsei University, Wonju-si, Gangwon-do 220-710, Korea.

Tel: +82-33-760-2423, Fax: +82-33-760-2561

e-mail: kimjb70@yonsei.ac.kr

©The Korean Society for Biomedical Laboratory Sciences. All rights reserved.

33%의 환자에게 항생제 치료를 실시하고 있다 (Foxman and Brown, 2003). 또한 세균이 가지고 있는 병원성 (virulence)과 숙주의 감수성에 의해 요로감염의 중등도가 결정된다 (Johnson JR, 1991).

요로감염을 유발하는 요로병원성 *E. coli* (uropathogenic *E. coli*)는 특정 병원성인자를 보유하고 있는데, 이 병원성인자에는 세포부착인자 (P fimbriae, S fimbriae, type 1 fimbriae)가 가장 흔하고, 독소 (α -hemolysin, cytotoxic necrotizing factor type 1), bacteriocin (uropathogenic-specific protein), siderophores (aerobactin) 등이 알려져 있다 (Adamus-Bialek et al., 2009). 이 중 세포부착인자에 의해 요로상피세포로의 세포 부착능이 감염의 시작에 중요한 역할을 하며 특히 P fimbriae (pyelonephritis associated pili)는 신우신염 유발에 결정적 역할을 하는 것으로 보고되고 있다 (Domingue et al., 1985). 또한 대장균은 phylogenetic group으로 분류가 가능하고, 여기에는 4가지의 주요군 (A, B1, B2, D)이 있다 (Herzer et al., 1990). 요로감염과 같은 장외감염을 일으키는 병원성 대장균 중 대부분이 B2와 D군에 속한다 (Bingen et al., 1998).

요로병원성 대장균에 의한 요로감염증의 치료에는 sulfamethoxazole/trimethoprim (TMP/SMX)이 많이 사용되었으나 TMP/SMX의 내성률의 증가로 인해 미국의 Infectious Disease Society of America (IDSA)에서는 quinolone을 경험적 1차 치료제로 선택하도록 하였다 (Warren et al., 1999). 우리나라의 경우 *E. coli*의 TMP/SMX에 대한 내성은 이미 30~40% 이상으로 보고되고 있어 quinolone계 항생제가 경험적 1차 치료제로 많이 사용되고 있다 (Lee et al., 2003). 그에 따라 ciprofloxacin의 내성률도 계속해서 증가하고 있는 추세이다 (Chang et al., 2008).

실제 요로감염을 유발한 환자에서의 병원성인자 보유율 (Heo et al., 2002; Lim et al., 2002; Adamus-Bialek et al., 2009) 및 phylogenetic group (Adamus-Bialek et al., 2009; Bukh et al., 2009) 그리고 항생제 내성률 (Lee et al., 2003; Chang et al., 2008)에 대한 연구는 보고가 많이 되고 있는 실정이지만, 요로감염을 유발하지 않은 정상인의 소변에서 분리된 대장균의 병원성인자 보유율 및 phylogenetic group 그리고 항생제 내성률에 대한 연구는 찾아보기 어렵다.

본 실험에서는 요로감염에 이환된 적이 없는 건강한 학생들의 소변에서 분리된 대장균의 병원성인자의 보유율과 phylogenetic group 그리고 ciprofloxacin 내성률을 요로감염이 유발된 환자에서 분리된 요로병원성 대장균과

비교함으로써, 요로감염을 유발한 요로병원성 대장균과 정상인에서 분리되는 대장균간의 차이점을 조사하여 실제 일반인에서 요로감염을 유발할 가능성이 있는지를 조사하고자 하였다.

재료 및 방법

대상

2011년 8월에서 2011년 9월까지 약 1개월간 연세대학교 원주캠퍼스 재학생 중 요로감염 병력이 없는 학생 100명을 대상으로 수집한 중간노 검체를 채취한 다음 미생물 배양을 실시하여 분리한 13주의 *E. coli*와 2010년 7월에서 2010년 12월까지 요로감염이 의심되어 원주기독병원을 내원한 환자 175명의 소변 검체에서 분리한 175주의 *E. coli*를 대상으로 하였다.

Multiplex polymerase chain reaction을 이용한 병원성인자의 검출

분리한 대장균을 brain heart infusion broth에 접종하여 37°C에서 18시간 배양한 후 배양액 1 ml을 취하여 12,000 rpm에서 10분간 원심분리하는 수세과정을 2회 반복한 다음 세균침사에 200 μ l의 멸균증류수를 넣어 세균부유액을 제조하였다. 이를 100°C에서 10분간 끓인 후 12,000 rpm에서 10분간 원심분리하여, 상층액을 취하고 template DNA로 사용하였다. 실험에 사용한 primer는 CosmoGenetech Co. (Seoul, Korea)에 의뢰하여 합성하였으며 primer의 염기서열 및 증폭된 amplicon의 크기는 Table 1과 같다 (Adamus-Bialek et al., 2009). Multiplex PCR (polymerase chain reaction)을 이용하여 병원성인자를 검출하기 위하여 30 μ l의 reaction mixture에는 추출한 대장균의 DNA 2 μ l, 5 pmole의 각 primer (pap1, pap2, sfa1, sfa2, cnf1a, cnf2a, usp1mod, usp2mod, hly1mod, hly2mod, fimGH1, fimGH2), 10 \times PCR buffer, 2 mM MgCl₂, 1 μ l dimethylsulfoxide, 2.5 mM deoxynucleoside triphosphate (dATP, dGTP, dCTP, dTTP), 1 U G-Taq DNA polymerase (CosmoGenetech Co., Seoul, Korea)를 혼합하였다. 중합효소연쇄반응은 thermal cycler (GeneAmp PCR system 2700, Perkin-Elmer Cetus, Boston, USA)를 이용하여, 95°C에서 3분간 denaturation한 후 95°C에서 1분, 60°C에서 1분 30초, 72°C에서 3분간 35 cycle을 한 후, 72°C에서 8분간 final extension을 수행하였다. 증폭산물은 1.5% agarose gel에서 100 bp DNA ladder (Fermentas, Burlington, Canada)와 함께 1 \times TAE buffer에서 전기영동

Table 1. Description of the primers used in this study

Primer	Primer sequence (5'-3')	Amplicon size	Gene/region amplified	Reference
Virulence factors				
pap1	GACGGCTGTA CTGCAGGGTGTGGCG	328 bp	<i>papC</i>	
pap2	ATATCCTTTCTGCAGGGATGCAATA			
sfa1	CTCCGGAGA ACTGGGTGCATCTTAC	410 bp	<i>sfaD/sfaE</i>	
sfa2	CGGAGGAGTA ATTACAAACCTGGCA			
cnf1a	AAGATGGAGTTTCCTATGCAGGAG	498 bp	<i>cnf1</i>	
cnf12a	CATTCAGAGTCCTGCCCTCATTATT			Adamus-Bialek et al., 2009
usp1mod	TTCTGGGGA ACTGACATTCACGG	657 bp	<i>usp</i>	
usp2mod	CCTCAGGGACATAGGGGGAA			
fimGH1	GCAATGTTGGCGTTCGCAAGTGC	1,001 bp	<i>fimG/fimH</i>	
fimGH2	CGTAAATATTCACACAAACTGG			
hly1mod	AACAACGATAAGCACTGTTCTGGCT	1,177 bp	<i>hlyA</i>	
hly2mod	ACCATATAAGCGGTCATCCCATCA			
Phylogenetic group				
TspE4C1	GAGTAATGTCGGGGCATTCA	152 bp	TSPE4.C2	
TspE4C2	CGCGCCAACAAAGTATTACG			
Yja1	TGAAGTGCAGGAGACGCTG	211 bp	<i>yjaA</i>	Clermont et al., 2000
Yja2	ATGGAGAATGCGTTCCTCAAC			
ChuA1	GACGAACCAACGGTCAGGAT	279 bp	<i>chuA</i>	
ChuA2	TGCCGCCAGTACCAAAGACA			

한 후 ethidium bromide (0.5 µg/ml)로 10분간 염색하여 GelDoc Image Analyzer (Biorad, Hercules, USA)를 이용하여 증폭 유무 및 크기를 관찰하였다.

Triplex polymerase chain reaction을 이용한 phylogenetic analysis

Triplex PCR을 이용하여 phylogenetic group를 분석하기 위하여 실험에 사용한 primer의 sequence는 Table 1과 같다 (Clermont et al., 2000). 20 µl의 reaction mixture에는 추출한 대장균의 DNA 2 µl, 10 pmole의 각 primer (TspE4C1, TspE4C2, YjaA1, YjaA2, ChuA1, ChuA2), 10 × PCR buffer, 2.5 mM deoxynucleoside triphosphate (dATP, dGTP, dCTP, dTTP), 2.5 U G-Taq DNA polymerase (CosmoGenetech Co., Seoul, Korea)를 혼합하였다. 증합효소연쇄반응은 thermal cycler (GeneAmp PCR system 2700, Perkin-Elmer Cetus, Boston, USA)를 이용하여, 94°C에서 4분간 denaturation 한 후 94°C에서 5초, 59°C에서 10초, 72°C에서 5분간 30 cycle을 수행하였다. 증폭산물은 1.5% agarose gel에서 100 bp DNA ladder (Fermentas, Burlington, Canada)와 함께 1 × TAE buffer를 사용하여 전기영동한 후 ethidium bromide

(0.5 µg/ml)로 10분간 염색하여 GelDoc Image Analyzer (Biorad, Hercules, USA)를 이용하여 증폭 유무 및 크기를 관찰하였다.

Ciprofloxacin 감수성 시험

Ciprofloxacin 내성 유형을 파악하기 위한 항생제 감수성 시험은 실험 균주를 MacConkey agar에 접종하고 37°C에서 하룻밤 배양한 후 단일 집락을 취하여 멸균식염수 3.0 ml에 부유시킨 다음 최종농도가 0.5 McFarland barium sulfate turbidity standard와 동일하게 조정하였다. 이 세균 부유액을 멸균된 면봉을 이용하여 Mueller-Hinton agar (Difco, Detroit, USA)에 고르게 도말하고 배지중앙에 5 µg ciprofloxacin disk를 붙인 후 18시간 배양하여 억제대를 관찰하였다.

결 과

병원성인자와 phylogenetic group의 검출

대장균으로 분리 동정된 균주의 병원성인자와 phylogenetic group의 profile은 Table 2와 같다. 건강한 학생들과

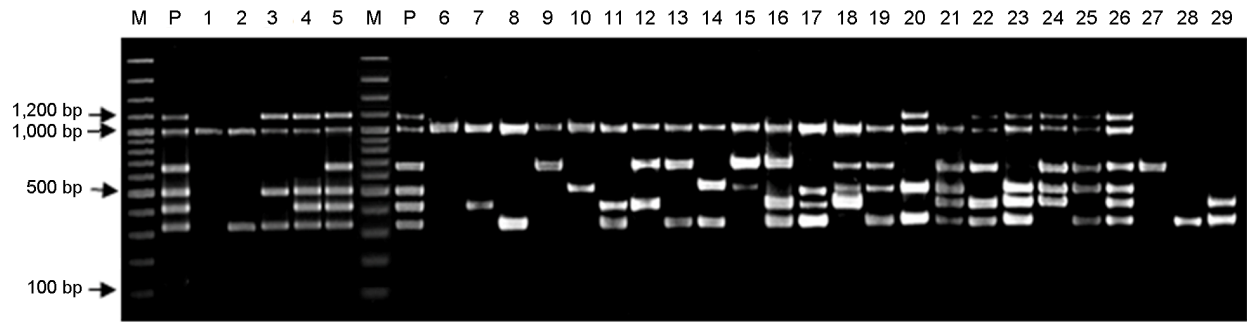


Fig. 1. Multiplex PCR for virulence factors of *E. coli* from healthy students and UTI patients. Lane M, 100 bp DNA ladder; lane P, *E. coli* Bi7458-41 (positive control), *hlyA* (1,177 bp), *fimG/H* (1,001 bp), *usp* (657 bp), *cnf1* (498 bp), *sfadE* (410 bp), *papC* (328 bp); lanes 1 to 5, *E. coli* isolates from healthy students; lanes 6 to 29, *E. coli* isolates from patients with urinary tract infections.

Table 2. Virulence factor (VF) gene profiles of *E. coli* strains from patients with urinary tract infections isolated in 2010 and *E. coli* strains from healthy students isolated in 2011

Healthy students						Urinary tract infection patients														
Genotype						Phylogenetic group				Genotype						Phylogenetic group				
F	S	P	U	C	H	A	B1	B2	D	F	S	P	U	C	H	A	B1	B2	D	
+	-	-	-	-	-	2		2	2	+	-	-	-	-	-	6	9	22	23	
										+	+	-	-	-	-	1			4	
+	-	+	-	-	-			1		+	-	+	-	-	-				11	6
										+	-	-	+	-	-	3			4	5
										+	-	-	-	+	-				1	3
										+	+	+	-	-	-				5	
										+	+	-	+	-	-				2	
										+	-	+	+	-	-	1			2	2
										+	-	+	-	+	-				2	2
										+	-	-	+	+	-				4	
										+	+	+	+	-	-				2	
										+	+	+	-	+	-	1			16	
										+	+	-	+	+	-				4	
										+	-	+	+	+	-				1	
+	-	+	-	+	+			1		+	-	+	-	+	+				1	
										+	+	+	+	+	-				2	
										+	+	+	+	+	+					1
										+	+	+	-	+	+				3	
										+	+	-	+	+	+				1	
										+	-	+	+	+	+				2	
										+	+	+	+	+	+				10	
										-	-	-	+	-	-				2	
										-	-	+	-	-	-				1	
										-	+	+	-	-	-				1	
-	-	-	-	-	-	1	1		1	-	-	-	-	-	-	4			3	2
Total (n=13)						3	1	6	3	Total (n=175)						16	9	106	44	

F, *fimG/H*; S, *sfadE*; P, *papC*; U, *usp*; C, *cnf1*; H, *hlyA*

요로감염 환자에서 6개의 병원성인자 중 type 1 fimbriae만 (*fimG/H* +)을 보유한 *E. coli*가 가장 많이 확인되었으며 (healthy students: 46.2%, UTIs patients: 34.3%), type 1 fimbriae만 (*fimG/H* +)을 보유한 *E. coli*를 제외하고, 요로감염 환자에서 분리한 대장균에서 높은 빈도를 보이는 *E. coli*의 병원성인자는 *fimG/H* +, *papC* + (9.7%), *fimG/H* +, *sfaD/E* +, *papC* +, *cnf1* + (9.7%), *fimG/H* +, *usp* + (6.9%), *fimG/H* +, *sfaD/E* +, *papC* +, *usp* +, *cnf1* +, *hlyA* + (5.7%), 6개의 병원성인자를 모두 보유하지 않는 *E. coli*가 (5.1%) 순이었다. 이에 비하여 건강한 학생들에서는 병원성인자를 보유하지 않는 *E. coli* (23.1%)가 가장 높은 빈도를 보였고, *fimG/H* +, *papC* + (7.7%), *fimG/H* +, *papC* +, *cnf1* +, *hlyA* + (7.7%), *fimG/H* +, *sfaD/E* +, *papC* +, *cnf1* +, *hlyA* + (7.7%), *fimG/H* +, *sfaD/E* +, *papC* +, *usp* +, *cnf1* +, *hlyA* + (7.7%)로 각 1주의 *E. coli*가 확인이 되었다.

Phylogenetic group 분석에서는 두 군 모두 B2와 D군에 속하는 *E. coli* 균주가 가장 많았으며 (healthy students: B2 46.2%, D 23.1%, UTIs patients: B2 60.6%, D 25.1%), 병원성인자를 하나 이상 가지는 균주가 건강한 학생에서 분리된 대장균에서 76.9%, 요로감염 환자에서 분리된 대장균에서 94.9%였다 (Fig. 1).

Ciprofloxacin 감수성 시험

Ciprofloxacin 감수성 시험 결과는 Table 2와 같다. 비뇨기계 자각 증상이 없으며 요로감염 경험이 없는 정상인 학생 100명에서 분리된 대장균 13주 중 1주 (7.7%)에서 내성을 보였고, 요로감염 환자에서 분리된 요로병원성 대장균의 ciprofloxacin에 대한 내성률은 175주 중 52주 (29.7%)로 나타났다.

고 찰

대장균에 의한 요로감염 병력이 없는 정상인에서 분리한 대장균과 요로감염 환자에서 분리한 대장균의 병원성인자 보유율, phylogenetic group 및 ciprofloxacin에 대한 저항성을 비교 검토하기 위하여 본 연구를 실시하였다.

요로감염 환자로부터 분리한 175주의 대장균과 정상인 학생들에서 분리한 대장균 13주에 대하여 병원성인자 *fimG/H*, *sfaD/E*, *usp*, *cnf1*, *papC*, *hlyA* 유전자에 대한 multiplex-PCR을 수행하여 조사한 결과 비뇨기계 감염 환자로부터 분리한 175주의 대장균의 병원성인자 보유율은 *fimG/H* (92.5%), *sfaD/E* (30.3%), *papC* (41.4%), *usp* (27.4%),

cnf1 (30.3%), *hlyA* (10.3%)였고, 건강한 학생들에서 분리한 13주의 대장균의 병원성인자 보유율은 *fimG/H* (76.9%), *sfaD/E* (30.8%), *papC* (15.4%), *usp* (7.7%), *cnf1* (23.1%), *hlyA* (23.1%)로 다소 차이가 있었으며 요로감염 환자로부터 분리한 대장균의 병원성인자 보유율이 높게 확인되었다. 특히, type 1 fimbriae의 보유율은 요로감염 환자에서 분리한 대장균과 정상인에서 분리한 대장균 모두에서 가장 높은 것을 알 수 있었다. Adamus-Bialek 등은 127주의 요로병원성 *E. coli* 중 5주를 제외한 122주 (96.1%)에서 type 1 fimbriae를 보유하였다고 하여 (Adamus-Bialek et al., 2009) 본 실험에서의 요로병원성 *E. coli*의 type 1 fimbriae 보유율과 비슷한 것으로 나타났다. 또한 정상인에서 분리된 대장균 13주 중 10주에서 *fimG/H* (type 1 fimbriae)가 검출되었고, 그 밖의 병원성인자 *sfaD/E*, *papC*, *cnf1*, *hlyA*, *usp*가 함께 검출되어 정상인에서도 대장균에 의한 요로감염을 잠재적으로 유발할 가능성이 있음을 시사하였다.

본 실험에서 분리한 총 175주의 요로병원성 대장균과 비뇨기계 자각 증상이 없으며 요로감염 병력이 없는 건강인에서 분리한 대장균의 phylogenetic group을 조사한 결과는 175주의 요로병원성 대장균에서 phylogenetic group A (9.1%), B1 (5.1%), B2 (60.6%), D (25.1%)로 확인되었으며, 건강인에서 분리한 대장균에서 phylogenetic group A (23%), B1 (8%), B2 (46%), D (23%) 등으로 확인되었다. 비뇨기계 감염에서 분리된 대장균의 phylogenetic group은 B2와 D군에서 가장 높은 빈도를 보인다고 (Bukh et al., 2009) 보고되고 있는 것과 마찬가지로 본 실험의 결과에서 또한 B2와 D군에서 가장 높은 빈도를 보였다.

Kim 등이 한국 전남과 광주에서의 ciprofloxacin 내성률이 30%에 육박한다고 보고한 것 (Kim et al., 2008)과 비슷하게 본 실험에서 요로감염 환자에서 분리된 요로병원성 대장균의 ciprofloxacin에 대한 내성률은 175주 중 52주 (29.7%)로 확인되었다. 요로감염 병력이 없는 정상인 학생들에서 분리된 대장균에서는 13주 중 1주 (7.7%)에서 내성의 결과를 보였다.

본 연구의 결과를 종합하여 볼 때 요로에 감염하는 대장균과 정상인에서 분리된 대장균의 병원성 결정인자 보유 여부와 대장균의 phylogenetic group 간에 밀접한 연관이 있는 것으로 나타났으며 요로병원성 대장균의 ciprofloxacin에 대한 내성률이 높은 빈도를 보이는 것으로 확인되었다.

또한 정상인에서 분리되고 있는 대장균의 병원성인자 보유율은 요로감염을 유발한 요로병원성 대장균의 병원

성인자 보유율과 유사한 경향을 보이므로 요로감염에 대한 예방의학적 측면에서 적절한 대책을 수립하기 위해 정상인에서 분리되는 대장균의 병원성인자 보유율 및 항생제 내성률 등에 관한 체계적인 모니터링이 시급한 것으로 사료된다. 한편 본 연구에서 건강한 학생에서 분리한 실험 균주의 대상이 적었으므로, 좀더 많은 대상에 대한 연구를 진행한다면 더 나은 결론을 얻으리라 생각된다.

Acknowledgements

본 연구는 농촌진흥청 공동연구사업 (PJ907017042012)의 지원을 받아 수행하였습니다.

REFERENCES

- Adamus-Bialek W, Wojtasik A, Majchrzak M, Sosnowski M, Parniewski P. (CGG)4-Based PCR as a Novel Tool for Discrimination of Uropathogenic *Escherichia coli* strains: Comparison with Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus-PCR. *J Clin Microbiol*. 2009. 47: 3937-3944.
- Bingen E, Picard B, Brahimi N, Mathy S, Desjardins P, Elion J, Denamur E. Phylogenetic analysis of *Escherichia coli* strains causing neonatal meningitis suggests horizontal gene transfer from a predominant pool of highly virulent B2 group strains. *J infect Dis*. 1998. 177: 642-650.
- Bukh AS, Schönheyder HC, Emmersen JM, Søgaard M, Bastholm S, Roslev P. *Escherichia coli* phylogenetic groups are associated with site of infection and level of antibiotic resistance in community-acquired bacteraemia: a 10 year population-based study in Denmark. *J Antimicrob Chemother*. 2009. 64: 163-168.
- Change IH, Bang SH, Choi NY, Park SY, Han JH, Ahn SH. Trends in the emergence of ciprofloxacin-resistant *Escherichia coli* and the relationship With underlying diseases in patients with urinary tract infection. *Korean J Urol*. 2008. 49: 66-71.
- Clermont O, Bonacorsi S, Bingen E. Rapid and simple determination of the *Escherichia coli* phylogenetic group. *Appl Environ Microbiol*. 2000. 66: 4555-4558.
- DeBoy JM, Wachsmuth IK, Davis BR. Hemolytic activity in enterotoxigenic and non-enterotoxigenic strains of *Escherichia coli*. *J Clin Microbiol*. 1988. 12: 193-198.
- Domingue GJ, Roberts JA, Laucirica R, Ratner MH, Bell DP, Suarez GM, Kallenius G, Svenson S. Pathogenic significance of P-fimbriated *Escherichia coli* in urinary tract infection. *J Urol*. 1985. 133: 983-989.
- Fhin SD. Clinical practice. Acute uncomplicated urinary tract infection in Women. *N Engl J Med*. 2003. 17; 349: 259-266.
- Foxman B, Brown P. Epidemiology of urinary tract infections Transmission and risk factors, incidence, and costs. *Infect Dis Clin North Am*. 2003. 17: 227-241.
- Gupta K, Hooton TM, Stamm WE. Increasing antimicrobial resistance and the management of uncomplicated community acquired urinary tract infections. *Ann Intern Med*. 2001. 135: 41-50.
- Heo J, Kim JK, Song MO, Park CM, Kim WY, Chung SI. Profile of Virulence Genes and Rep-PCR Genomic Finger- printing on *Escherichia coli* Strains Isolated from Patients with Urinary Tract Infection. *J Bacteriol Virol*. 2002. 33: 1-10.
- Herzer PJ, Inouye S, Inouye M, Whittam TS. Phylogenetic distribution of branched RNA-linked multicopy single-stranded DNA among natural isolates of *Escherichia coli*. *J Bacteriol*. 1990. 172: 6175-6181.
- Johnson JR. Virulence factors in *Escherichia coli* urinary tract infection. *Clin Microbiol Rev*. 1991. 4: 80-128.
- Kim KY, Kim CS, Lim DH. The ciprofloxacin resistance pattern of *Escherichia coli* isolated from female patients with community-acquired urinary tract infection in the Jeonnam and Gwangju region for the recent 2-years. *Korean J Urol*. 2008. 49: 540-548.
- Lee WY, Kim JB. Serological studies on the specific antibodies against p-pili of uropathogenic *Escherichia coli*. *Korean J Biomed Lab Sci*. 1996. 2: 31-40
- Lee SJ, Cho YH, Kim BW, Lee JG, Jung SI, Lee SD, Lee SE, Kim ME, Choi YD, Rim JS, Sim BS, Cho IR, Ryu SB, Kim CS, Kim WJ, Lee TY. A Multicenter Study of Antimicrobial Susceptibility of Uropathogens Causing Acute Uncomplicated Cystitis in Woman. *Korean J Urol*. 2003. 44: 697-701.
- Li D, Liu B, Guo D, Guo X, Liu F, Feng L, Wang L. A multiplex PCR method to detect 14 *Escherichia coli* serogroups associated with urinary tract infections. *J Microbiol Methods*. 2010. 82: 71-77.
- Lim SJ, Kim SY, Lim IS, Yoon SW, Chae SA, Lee DK, Choi ES, Yoo BH, Song MO, Kim WY. Detection of virulence genes in uropathogenic *Escherichia coli* by multiplex polymerase chain reaction (PCR): Comparison with Clinical characteristics. *Korean J Nephrol*. 2002. 21: 618-628.
- Warren JW, Abrutyn E, Hebel JR, Johnson JR, Schaeffer AJ, Stamm WE. Guidelines for antimicrobial treatment of uncomplicated acute bacterial cystitis and acute pyelonephritis in women. *Clin Infect Dis*. 1999. 29: 745-758.