



## Characterization of uropathogenic *Escherichia coli* strains isolated from the urinary tract of women during pregnancy

## Caracterización de cepas de *Escherichia coli* uropatógena aisladas del tracto urinario de mujeres durante el embarazo

García Cervantes, P. C., Castañeda Meléndrez, A. M., Osuna Ramírez, I., Bernal Reynaga, R.\*

Unidad de Investigaciones en Salud Pública "Dra. Kaethe Willms". Facultad de Ciencias Químico-Biológicas. Universidad Autónoma de Sinaloa. Av. de las Américas y Josefa Ortíz de Domínguez S/N. C.P. 80010. Culiacán, Sinaloa, México.

**Cite this paper/Como citar este artículo:** García Cervantes, P. C., Castañeda Meléndrez, A. M., Osuna Ramírez, I., Bernal Reynaga, R. (2021). Characterization of uropathogenic *Escherichia coli* strains isolated from the urinary tract of women during pregnancy. *Revista Bio Ciencias* 8, e1123. doi: <https://doi.org/10.15741/revbio.08.e1123>



### ABSTRACT

Uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) is the main etiological agent involved in urinary tract infections (UTI), one of the most common bacterial infections in humans. UTIs are more prevalent in women, in whom the risk of developing an infection increases during pregnancy. This study aimed to determine the prevalence of UTI caused by UPEC in pregnant patients, as well as virulence factors and antibiotic resistance of the isolated strains. *Escherichia coli* strains were identified by conventional biochemical tests and subsequently, PCR for identification of UPEC virulence factors was performed. The Kirby-Bauer method was used to evaluate antibiotic susceptibility of the isolated strains. UTI prevalence in pregnant women was 32 %, with UPEC as the most frequent (36 %) microorganism

#### Article Info/Información del artículo

Received/Recibido: December 19<sup>th</sup> 2020.

Accepted/Aceptado: October 01<sup>th</sup> 2021.

Available on line/Publicado: October 19<sup>th</sup> 2021.

### RESUMEN

*Escherichia coli* uropatógena (UPEC) es el principal agente etiológico involucrado en las infecciones del tracto urinario (UTI), una de las infecciones bacterianas más comunes en seres humanos. Las UTI son más prevalentes en mujeres, donde el riesgo de padecerlas aumenta durante el embarazo. El objetivo del presente estudio fue determinar la prevalencia de UTI producidas por UPEC en pacientes embarazadas, así como los factores de virulencia y la resistencia a antibióticos de las cepas aisladas. Se identificó a *Escherichia coli* mediante pruebas bioquímicas convencionales, para posteriormente realizar la identificación de los factores de virulencia mediante PCR. El análisis de susceptibilidad a antibióticos se realizó mediante el método de Kirby-Bauer de difusión en agar. La prevalencia de UTI en pacientes embarazadas fue de 32 %, siendo UPEC el microorganismo más prevalente (36 %) en las infecciones. Se determinó que las cepas de UPEC fueron resistentes principalmente a ampicilina (100 %), carbenicilina y cefalotina (89 %). El gen *agn43* fue el más prevalente (78 %) en las cepas de UPEC, seguido de

#### \*Corresponding Author:

Rodolfo Bernal Reynaga. Unidad de Investigaciones en Salud Pública "Dra. Kaethe Willms". Facultad de Ciencias Químico-Biológicas. Universidad Autónoma de Sinaloa. Av. de las Américas y Josefa Ortíz de Domínguez S/N. C.P. 80010. Culiacán, Sinaloa, México. E-mail: [rodolfobernal@uas.edu.mx](mailto:rodolfobernal@uas.edu.mx). [www.uas.edu.mx](http://www.uas.edu.mx).

isolated from patients. UPEC strains showed resistance mostly to ampicillin (100 %), carbenicillin and cefalotin (89 %). The *agn43* gene was the most prevalent (78 %) in the strains, followed by *papC* (67 %). Interestingly, one of the isolated strains had six different virulence genes. Finally, our study shows that UPEC is the main microorganism associated with UTI during pregnancy, and possesses virulence factors and antibiotic multi-resistance that difficult the treatment and increase the risk of developing complications during pregnancy.

---

## KEY WORDS

---

Pregnancy; uropathogenic *Escherichia coli*; urinary tract infection; virulence factors; antibiotic resistance.

---

## Introduction

Urinary tract infections (UTIs) represent one of the most common acquired diseases in the general population, caused by bacterial invasion and colonization of the genitourinary tract. Due to anatomical differences, UTIs are significantly more common in women than in men. It is estimated that between 40 and 50 % of women will develop at least one infection of this type throughout their lifetime, occurring more frequently from the onset of sexual activity and in pregnancy, this being the period where perinatal morbidity and mortality increases (Ulett *et al.*, 2013; Calderón-Jaimes, 2013). Estimations indicate that during pregnancy, UTIs may occur in 2-15 % of expectant mothers (Matuszkiewicz-Rowinska *et al.*, 2015; Kalinderi *et al.*, 2018). This prevalence has been mainly associated with the physiological changes that occur during this stage, among which stand out a greater mechanical compression due to the enlarged uterus, which results in stasis of urine in the ureters, which in turn affects bladder emptying and producing as a consequence vesicoureteral reflux, increased pH and residual urine volume; thus, promoting the development of bacteriuria during this stage (Guglietta, 2017; Dautt-Leyva *et al.*, 2018; Taye *et al.*, 2018). These types of infections are commonly asymptomatic and occur in 5 to 12 % of cases and, if left untreated, patients could develop more severe infections such as cystitis and pyelonephritis, which have been associated with risk of preterm delivery and low birth weight, in addition to intrauterine growth retardation and intrauterine

*papC* (67 %). Interesantemente, una de las cepas aisladas poseía hasta seis genes de virulencia. Finalmente, nuestro estudio muestra que las UTI en pacientes embarazadas son ocasionadas principalmente por cepas de UPEC, las cuales poseen factores de virulencia y de resistencia a múltiples antibióticos, lo que en su conjunto dificulta el tratamiento de las infecciones e incrementa la posibilidad del desarrollo de complicaciones durante el embarazo.

---

## PALABRAS CLAVE

---

Embarazo; *Escherichia coli* uropatógena; infección del tracto urinario; factores de virulencia; resistencia a antibióticos.

---

## Introducción

Las infecciones del tracto urinario (UTI) representan una de las enfermedades adquiridas más comunes en la población en general, ocasionadas por la invasión y colonización de bacterias en el tracto genitourinario. Debido a las diferencias anatómicas, las UTI son significativamente más frecuentes en mujeres que en hombres. Se estima que entre el 40 y 50 % de las mujeres desarrollarán al menos una infección de este tipo a lo largo de su vida, presentándose con mayor frecuencia a partir del inicio de la actividad sexual y en el embarazo, siendo este período donde aumenta la morbilidad y mortalidad perinatal (Ulett *et al.*, 2013; Calderón-Jaimes, 2013). Se estima que, durante el embarazo, las UTI pueden presentarse entre el 2 y 15 % de las gestantes (Matuszkiewicz-Rowinska *et al.*, 2015; Kalinderi *et al.*, 2018). Esta prevalencia se ha relacionado principalmente a los cambios fisiológicos que se presentan durante esta etapa, entre los que destacan una mayor compresión mecánica debido al útero agrandado, lo que se traduce en estasis de la orina en los uréteres, que afecta a su vez el vaciamiento de la vejiga y produciendo como consecuencia reflujo vesicoureteral, incremento del pH y volumen residual de orina; esto último podría favorecer el desarrollo de bacteriurias durante esta etapa (Guglietta, 2017; Dautt-Leyva *et al.*, 2018; Taye *et al.*, 2018). Este tipo de infecciones son comúnmente asintomáticas y ocurren en el 5 al 12 % de los casos y, de mantenerse sin tratamiento, las pacientes podrían desarrollar infecciones más severas como cistitis y pielonefritis, las cuales se han asociado con riesgo de parto prematuro y bajo peso al nacer, además de retraso del crecimiento intrauterino y muerte fetal intrauterina (Glaser & Schaeffer, 2015; Tadesse *et al.*, 2018; Kaduma *et al.*, 2019). *Escherichia coli* es el principal

fetal death (Glaser & Schaeffer, 2015; Tadesse et al., 2018; Kaduma et al., 2019). *Escherichia coli* is the main microorganism causing UTI during pregnancy causing both asymptomatic and symptomatic infections that are related to specific uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) strains (Hamdan et al., 2011; Forsyth et al., 2018). These strains have been identified by differential expression of virulence factors including adhesins, toxins, surface antigens, and iron acquisition systems, which allow UPEC to evade the immune system and adapt to their new environment in the host urinary tract (Bien et al., 2012; Terlizzi et al., 2017). Although UPEC infections are highly prevalent in women in the reproductive stage, little is known about their prevalence during pregnancy; on the other hand, asymptomatic bacteriuria in pregnant women that evolve without treatment has been associated with several complications during this stage. This study aimed to determine the prevalence of uropathogenic *Escherichia coli* in pregnant women with urinary tract infections and to determine the virulence and resistance factors of the isolated strains.

## Material and Methods

### Ethical aspects

All procedures performed with patients were approved by the Ethics Committee of the Centro de Investigación y Docencia en Ciencias de la Salud de the Universidad Autónoma de Sinaloa (registration CONBIOETICA-25-CEI-001-20180523).

### Study population

A representative random sampling of obstetric patients attending the Gynecology and Obstetrics service of the Civil Hospital in Culiacán, Sinaloa, Mexico, was conducted from January to May 2019. Seventy-eight samples of pregnant women were included, who signed a letter of informed consent and a clinical-epidemiological survey was applied to collect data related to age, gestational age, parity, schooling, income, and occupation. The diagnosis of UTI was established by general urine examination and urine culture with an antibiogram.

### Sample collection, culture and identification of microorganisms

Samples were collected from the first-morning

microorganismo causante de UTI durante el embarazo ocasionando infecciones tanto sintomáticas como asintomáticas que se relacionan con cepas específicas de *Escherichia coli* uropatógena (UPEC) (Hamdan et al., 2011; Forsyth et al., 2018). Estas cepas se han identificado por la expresión diferencial de factores de virulencia que incluyen adhesinas, toxinas, antígenos superficiales y sistemas de adquisición de hierro, los cuales le permiten a UPEC evadir el sistema inmunológico y adaptarse a su nuevo entorno en el tracto urinario del hospedero (Bien et al., 2012; Terlizzi et al., 2017). A pesar de que las infecciones por UPEC son altamente prevalentes en mujeres en etapa reproductiva, se conoce poco de su prevalencia durante el embarazo; por otro lado, las bacteriurias asintomáticas en las gestantes que evolucionan sin tratamiento se han relacionado con diversas complicaciones durante esta etapa. El objetivo de este estudio fue determinar la prevalencia de *Escherichia coli* uropatógena en embarazadas con infección urinaria y determinar los factores de virulencia y resistencia que poseen las cepas aisladas.

## Material y Métodos

### Aspectos éticos

Los procedimientos realizados con las pacientes fueron aprobados por el Comité de Ética del Centro de Investigación y Docencia en Ciencias de la Salud de la Universidad Autónoma de Sinaloa (registro CONBIOETICA-25-CEI-001-20180523).

### Población de estudio

Se realizó un muestreo aleatorio representativo de las pacientes obstétricas que acuden al servicio de Ginecología y Obstetricia del Hospital Civil en Culiacán, Sinaloa, México, en el periodo de enero a mayo de 2019. Se incluyeron 78 muestras de gestantes, quienes firmaron una carta de consentimiento informado y se aplicó una encuesta clínico-epidemiológica para la obtención de los datos relacionados a edad, edad gestacional, paridad, escolaridad, ingresos y ocupación. El establecimiento del diagnóstico de UTI se realizó mediante el examen general de orina y un urocultivo con antibiograma.

### Recolección de la muestra, cultivo e identificación de microorganismos

Las muestras fueron recolectadas de la primera micción de la mañana en recipientes estériles. Se

micturition in sterile containers. Samples were inoculated on CLED and MacConkey agar and incubated at 37 °C for 18-24 hours for macroscopic identification of colonies. Subsequently, a battery of biochemical tests including citrate and malonate utilization, glucose, lactose and sucrose fermentation, H<sub>2</sub>S production, lysine and ornithine decarboxylation, motility, indole, urea hydrolysis, were used for bacterial identification.

#### Antibiotic susceptibility

Antibiotic susceptibility testing of *E. coli* isolates was evaluated using the Kirby-Bauer agar diffusion method following the Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI, 2017) guidelines. Discs containing the antibiotics at the following concentrations were used: Amikacin (30 µg), Ampicillin (10 µg), Carbenicillin (100 µg), Cephalothin (30 µg), Cefotaxime (30 µg), Ciprofloxacin (5 µg), Chloramphenicol (30 µg), Gentamicin (10 µg), Netilmicin (30 µg), Nitrofurantoin (300 µg), Norfloxacin (10 µg) and Sulfamethoxazole/Trimethoprim (25 µg). *E. coli* ATCC 25922 was included as quality control for the assay.

#### Identification of virulence genes

For PCR reactions, bacterial lysates were prepared by resuspending five colonies in 1 mL of sterile injectable water. Subsequently, the suspensions were placed in water at 100 °C for 1 min and quickly transferred to ice-cooling for 5 min. Two multiplex PCR reactions previously described by Guzmán-Hernández *et al.* (2016) were used to detect virulence genes, using the oligonucleotides described in Table 1. In the first multiplex PCR (I), the genes: *hlyA* (α-hemolysin), *fyuA* (yersiniabactin siderophore receptor), *cnf1* (cytotoxic necrotizing factor 1), *fimA* (fimbria type 1), *papC* (fimbria P) and *vat* (vacuolizing toxin) were identified using the following reaction mixture: 1X Green GoTaq Flexi Buffer (Promega), 1.5 U of GoTaq Flexi DNA Polymerase (Promega), 1.8 mM MgCl<sub>2</sub> (Promega), 250 µM of the dNTPs mixture (Promega), 6 µL of the 12 oligonucleotides mixture and 2 µL of the bacterial lysate, for a final volume of 25 µL. The amplification program consisted of an initial denaturation cycle at 95 °C for 5 minutes, followed by 40 cycles of 94 °C for 30 seconds, 66 °C for 40 seconds and 68 °C for 1 minute; finally, a final extension cycle at 72 °C for 10 minutes. UPEC reference strains 2H25B and O30U were used for this assay. In the second multiplex PCR (II) the genes *iroN* (salmochelin siderophore receptor), *iutA* (aerobactin

inoculacion en agar CLED y MacConkey, y se incubaron a 37 °C durante 18-24 horas para la identificación macroscópica de las colonias. Posteriormente se realizó su identificación mediante una batería de pruebas bioquímicas entre las que se incluyen utilización del citrato y malonato, fermentación de glucosa, lactosa y sacarosa, producción de H<sub>2</sub>S, descarboxilación de lisina y ornitina, movilidad, indol, hidrólisis de urea.

#### Susceptibilidad a antibióticos

Los análisis de susceptibilidad a antibióticos de las cepas aisladas de *E. coli* se evaluaron con el método de Kirby-Bauer de difusión en agar siguiendo las indicaciones del Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI, 2017). Se utilizaron discos que contenían los antibióticos en las siguientes concentraciones: Amikacina (30 µg), Ampicilina (10 µg), Carbenicilina (100 µg), Cefalotina (30 µg), Cefotaxima (30 µg), Ciprofloxacino (5 µg), Cloranfenicol (30 µg), Gentamicina (10 µg), Netilmicina (30 µg), Nitrofurantoína (300 µg), Norfloxacino (10 µg) y Sulfametoxazol/Trimetoprim (25 µg). *E. coli* ATCC 25922 se incluyó como control de calidad del ensayo.

#### Identificación de genes de virulencia

Para las reacciones de PCR, se prepararon lisados bacterianos resuspendiendo cinco colonias en 1 mL de agua inyectable estéril. Posteriormente, las suspensiones se colocaron en agua a 100 °C durante 1 minuto y rápidamente se pasaron a enfriamiento en hielo durante 5 minutos. Se utilizaron dos reacciones de PCR multiplex descritas previamente por Guzmán-Hernández *et al.* (2016) para detectar los genes de virulencia, utilizando los oligonucleótidos descritos en la Tabla 1. En la primera PCR multiplex (I) se identificaron los genes: *hlyA* (α-hemolisina), *fyuA* (receptor del sideróforo yersiniabactina), *cnf1* (factor necrotizante citotóxico 1), *fimA* (fimbria tipo 1), *papC* (fimbria P) y *vat* (toxina vacuolizante), utilizando la siguiente mezcla de reacción: 1X Green GoTaq Flexi Buffer (Promega), 1.5 U de GoTaq Flexi DNA Polymerase (Promega), 1.8 mM de MgCl<sub>2</sub> (Promega), 250 µM de la mezcla de dNTPs (Promega), 6 µL de la mezcla de los 12 oligonucleótidos y 2 µL del lisado bacteriano, para un volumen final de 25 µL. El programa de amplificación constó de un ciclo de desnaturalización inicial a 95 °C durante 5 minutos, posteriormente se sometieron a 40 ciclos de 94 °C por 30 segundos, 66 °C por 40 segundos y 68 °C durante 1 minuto; por último, un ciclo de extensión final a 72 °C por 10 minutos. Para este ensayo se utilizaron las cepas de referencia de UPEC 2H25B y O30U. En la

**Table 1.**  
**UPEC primers for virulence genes identification**

**Tabla 1.**  
**Iniciadores utilizados para la identificación de genes de virulencia de UPEC**

Multiplex PCR	Gene	Primer sequence (5'-3')	Amplicon size (bp)	Primer (pMol) in mix
I	<i>hlyA</i>	F: AACAAAGGATAAGCACTGTTCT R: ACCATATAAGCGGTCATTCCC	1177	1.5
	<i>papC</i>	F: GACGGCTGTACTGCAGGGTGTGGCG R: ATATCCTTTCTGCAGGGATGCAATA	328	1.5
	<i>cnf1</i>	F: AAGATGGAGTTTCTATGCAGGAG R: CATTGAGATCCTGCCCTCATTATT	498	1.5
	<i>fimA</i>	F: GTTGTTCTGTCGGCTCTGTC R: ATGGTGTGGTTCCGTTATTC	447	10
	<i>fyuA</i>	F: TGATTAACCCCGCAGCGGGAA R: CGCAGTAGGCACGATGTTGTA	785	1.5
	<i>vat</i>	F: AGAGACGAGACTGTATTTGC R: GTCAGGTCAGTAACGAGCAC	289	5
II	<i>iroN</i>	F: AAGTCAAAGCAGGGTTCGCCG R: GACGCCGACATTAAGACGCAG	667	1.7
	<i>kpsMII</i>	F: GCGCATTGCTGATACTGTTG R: AGGTAGTTCAGACTCACACCT	578	30
	<i>agn43</i>	F: CTGGAAACCGTCTGCCCTT R: CCTGAACGCCAGGGTGATA	433	2
	<i>iutA</i>	F: GGCTGGACATCATGGAACTGG R: CGTCGGGAACGGGTAGAATCG	302	2.5

*hlyA*:  $\alpha$ -haemolysin; *papC*: P-fimbriae; *cnf1*: cytotoxic necrotizing factor 1; *fimA*: type 1 fimbriae; *fyuA*: yersiniabactin siderophore receptor; *vat*: vacuolizing toxin; *iroN*: salmochelin siderophore receptor; *kpsMII*: group II capsule; *agn43*: antigen 43; *iutA*: aerobactin siderophore receptor. Base pairs (bp). Taken from Guzmán-Hernández et al. (2016).

*hlyA*:  $\alpha$ -hemolisina; *papC*: fimbria P; *cnf1*: factor citotóxico necrotizante-1; *fimA*: fimbria tipo 1; *fyuA*: receptor del sideróforo de yersiniabactina; *vat*: toxina vacuolizante; *iroN*: receptor del sideróforo de salmoquelina; *kpsMII*: cápsula del grupo II; *agn43*: antígeno 43; *iutA*: receptor del sideróforo de aerobactina; *pb*: pares de bases. Tomado de Guzmán-Hernández et al. (2016).

siderophore receptor), *kpsMII* (Group II Capsule), and *agn43* (antigen 43) were identified; the reaction mixture contained: 1X Green GoTaq Flexi Buffer (Promega), 0.5 U of GoTaq Flexi DNA Polymerase (Promega), 2.0 mM MgCl<sub>2</sub> (Promega), 250  $\mu$ M of the dNTPs mixture (Promega), 6  $\mu$ L of the mixture of the 8 oligonucleotides and 2  $\mu$ L of the bacterial lysate, for a final volume of 25  $\mu$ L. The following amplification program was used: 1 initial denaturation cycle at 95 °C for 5 minutes, 40 cycles of 94 °C for 30 seconds, 66 °C for 40 seconds, 68 °C for 1 minute; and a final extension at 72 °C for 10 minutes. The reference strain V27 was used as a control for the assay. PCR products from both assays

segunda PCR multiplex (II) se identificaron los genes *iroN* (receptor del sideróforo salmoquelina), *iutA* (receptor del sideróforo aerobactina), *kpsMII* (Cápsula de grupo II) y *agn43* (antígeno 43); la mezcla de reacción contenía: 1X Green GoTaq Flexi Buffer (Promega), 0.5 U de GoTaq Flexi DNA Polymerase (Promega), 2.0 mM de MgCl<sub>2</sub> (Promega), 250  $\mu$ M de la mezcla de dNTPs (Promega), 6  $\mu$ L de la mezcla de los 8 oligonucleótidos y 2  $\mu$ L del lisado bacteriano, para obtener un volumen final de 25  $\mu$ L. Se utilizó el siguiente programa de amplificación: 1 ciclo de desnaturalización inicial a 95°C por 5 minutos, 40 ciclos de 94 °C por 30 segundos, 66 °C por 40 segundos, 68 °C por 1 minuto; y una extensión final a 72 °C por 10 minutos. Se

were visualized on agarose gels (2 %) at 85 V for 70 minutes and stained with GelRed (Biotium).

## Statistical analysis

Frequencies and percentages were calculated for qualitative variables and organized in tables. For quantitative variables, the mean was estimated; the 95 % confidence interval (95 % CI) was calculated for each of the variables of interest. A logistic regression model was used to test the hypothesis of an association between qualitative variables, as well as the odds ratio. A significance level of less than 0.05 was considered statistically significant. All analyses were performed in the statistical package Stata Intercooled version 13.1.

## Results and discussion

The mean age of the participants was 25.7 years (95 % CI: 23.2-28.2). Forty-one percent (n=32) of the women belonged to the first trimester of pregnancy, 26.9 % (n=21) to the second trimester, and 32.1% to the third trimester. Fifty-nine percent (n=46) reported being their first pregnancy. 48.7% (n=38) reported having higher education. Of the 78 participants, 32 % (n=25) of had infection. The highest frequency of infection occurred during the third trimester of gestation (44 %, 95 % CI: 24.4-65.1), followed by first-trimester patients (36 %, 95 % CI: 18.0-57.5), with no statistical evidence ( $p = 0.284$ ); in addition, multigestational patients showed a higher prevalence of infections (60 %, 95 % CI: 38.7-78.9) compared to primigravid patients (40 %, 95 % CI: 21.1-61.3), with the risk of infection being 3.2 times higher in multigestational women compared to primigravid women ( $p = 0.019$ ) (Table 2).

Various reports estimate that the highest prevalence of UTI in women during pregnancy occurs around age 20, with a prevalence between 5 and 20 % (Sivick & Mobley, 2010; Foxman, 2014). Hamdan *et al.* (2011) evaluated bacteriuria in pregnant women where the average age of their population was 25 years. Parveen *et al.* (2012) reported a prevalence of 26 %, slightly under that observed for our study; furthermore, the authors report that infections occurred mainly between the ages of 21 to 25 years, similar to the average age for our group with infection. Siemefo *et al.* (2016) evaluated UTIs

utilizó como control del ensayo a la cepa de referencia V27. Los productos de PCR de ambos ensayos se visualizaron en geles de agarosa (2 %) a 85 V durante 70 minutos y teñidos con GelRed (Biotium).

## Análisis estadístico

Se calcularon frecuencias y porcentajes para las variables cualitativas, los cuales fueron organizados en Tablas. Para las variables cuantitativas, se estimó la media; el intervalo de confianza del 95 % (IC95 %) fue calculado para cada una de las variables de interés. Se usó un modelo de regresión logística para probar la hipótesis de asociación entre variables cualitativas, así como la razón de momios. Un nivel de significancia menor a 0.05 fue considerado estadísticamente significativo. Todos los análisis se llevaron a cabo en el paquete estadístico Stata Intercooled versión 13.1.

## Resultados y discusión

La edad promedio de las participantes fue de 25.7 años (95 % CI: 23.2-28.2). El 41 % (n=32) de las mujeres pertenecieron al primer trimestre de embarazo, 26.9 % (n=21) al segundo trimestre y el 32.1 % al tercer trimestre. El 59 % (n=46) refirió ser su primer embarazo. El 48.7 % (n=38) dijo contar con estudios superiores. De las 78 participantes, el 32 % (n=25) de ellas presentaron infección. La mayor frecuencia de estas se presentaron durante el tercer trimestre de gestación (44 %, 95 % CI: 24.4-65.1), seguido de pacientes del primer trimestre (36 %, 95 % IC: 18.0-57.5); sin evidencias estadísticas ( $p = 0.284$ ); además, las pacientes multigestas mostraron una mayor prevalencia de infecciones (60 %, IC95 %: 38.7-78.9) comparadas con las de las pacientes primigestas (40 %, IC95 %: 21.1-61.3), siendo el riesgo de infección 3.2 veces más en mujeres multigestas en relación con primigestas ( $p = 0.019$ ) (Tabla 2). Diversos reportes estiman que la mayor prevalencia de UTI en mujeres durante el embarazo se presenta alrededor de los 20 años, con una prevalencia entre el 5 y el 20 % (Sivick & Mobley, 2010; Foxman, 2014). Hamdan *et al.* (2011) evaluaron bacteriurias en mujeres embarazadas donde la edad promedio de su población fue de 25 años. Parveen *et al.* (2012) reportaron una prevalencia de 26 %, ligeramente inferior a lo observado para nuestro estudio; además, los autores reportan que las infecciones se presentaron

**Table 2.**  
**Characteristics of pregnant women with UTI; n (%)**

**Tabla 2.**  
**Características de las pacientes embarazadas con ITU; n (%)**

<b>Total samples</b>	78 (100)
<b>Cases with UTI</b>	25 (32)
<i>Escherichia coli</i>	9 (36 %)
<i>Kluyvera cryocrescens</i>	6 (24 %)
Other enterobacteria	6 (24 %)
Mixed infections	4 (16 %)
<b>Gestational age (weeks)</b>	
1st. trimester (1-13)	9 (36)
2nd. trimester (14-16)	5 (20)
3rd. trimester (27-40)	11 (44)
<b>Parity*</b>	
Primipara	10 (40)
Multipara	15 (60)

\* Statistically significant at 5 %

\* Estadísticamente significativo al 5 %

in patients hospitalized for pregnancy complications, establishing that the age where the highest number of infections occurred was on average 24.4 years. Another study conducted in Ghana showed a higher prevalence than reported in the present study (42.8 %), with the highest number of infections observed in the 20-29 years age group (Forson *et al.*, 2018). The differences in prevalences are mainly associated with the geographic region where the study is conducted, due to the specific socio-economic and sanitary conditions of each region; most of these studies were conducted in developing countries, where these conditions are extremely deficient. On the other hand, there is no clear association between age and the development of infections, however, some authors discuss that women in ages between 20 and 30 (25.7 years of age in this study) could have a higher probability of developing infections due to a higher intensity in their sexual life, which causes urethral trauma and transfer of bacteria from the perineum to the bladder (Abdel-Aziz *et al.*, 2017; Tadesse *et al.*, 2018). Conversely, older age could present infections of greater severity, and in the case of

principalmente entre los 21 a 25 años, similar a la edad promedio para nuestro grupo con infección. Siemefo *et al.* (2016) evaluaron UTI en pacientes hospitalizadas por complicaciones del embarazo, estableciendo que la edad donde se presentaron el mayor número de infecciones fue en promedio 24.4 años. Otro estudio realizado en Ghana mostró una prevalencia mayor a lo reportado en el presente estudio (42.8 %), observándose el mayor número de infecciones en el grupo de 20 a 29 años (Forson *et al.*, 2018). Las diferencias en las prevalencias son asociadas principalmente a la región geográfica donde se realiza el estudio, debido a las condiciones socioeconómicas y sanitarias específicas de cada región; la mayoría de estos estudios fueron realizados en países en vías de desarrollo, donde estas condiciones son sumamente deficientes. Por otro lado, no existe una asociación clara entre la edad y el desarrollo de las infecciones, sin embargo, algunos autores discuten que mujeres en edades entre 20 y 30 (25.7 años de edad en este estudio) podrían tener una mayor probabilidad de desarrollar infecciones debido a una mayor intensidad en su vida sexual, lo que ocasiona traumas uretrales y transferencia de bacterias del perineo a

pregnancy, have an impact on the proper development and term of pregnancy. No significant association was observed between gestational age and susceptibility for the development of UTI ( $p=0.284$ ), however, several authors have determined that UTIs develop during the second and, mainly, during the third trimester, similar to what was reported in the present study (Hamdan *et al.*, 2011; Parveen *et al.*, 2012; Forson *et al.*, 2018). In addition, the association between the presence of UTI and the risk of developing complications has been investigated, finding that pregnant women with infections during trimesters one and three have a higher risk of developing preeclampsia (Easter *et al.*, 2016). It is suggested that the main reason for the development of these infections during this trimester is due to the mechanical compression exerted by the pregnant uterus favors the phenomenon of hydronephrosis of pregnancy, which promotes urinary stasis, producing as a consequence ureterovesical reflux that favors bacterial growth and the development of a UTI that, if not treated, can trigger a severe inflammatory process and preeclampsia (Kalinderi *et al.*, 2018).

On the other hand, in our study, UTIs occurred mainly in multigestation patients (60 %). The relevance of the number of gestations is quite controversial; while some authors have not found clear associations between both factors (Hamdan *et al.*, 2011; Easter *et al.*, 2016), others have shown high prevalences in patients with these characteristics, reporting up to 58 % of UTIs in multigestation patients (Siemeño *et al.*, 2016), similar to what was found in our study. In Mexico, the few works performed have shown percentages around 50 % (Acosta-Terriquez *et al.*, 2014; Dautt-Leyva *et al.*, 2018) and have associated the number of gestations as a risk factor for the development of UTI; that is, multigestation patients have twice the risk of developing UTI during pregnancy and this may be due to the multiple physiological changes that the urinary tract undergoes during gestation and that in many cases are irreversible, which predisposes patients to suffer these infections in subsequent pregnancies (Emiru *et al.*, 2013). After performing urine cultures in our patients, it was determined that *Escherichia coli* was the most prevalent isolated microorganism in pregnant women with UTI, occurring in 9 (36 %), followed by *Kluyvera cryocrescens* in 6 of the patients (24 %), other enterobacteria (6 patients, 24 %) and mixed infections (4 patients, 16 %). In this regard, Ifeanyichukwu *et al.*

la vejiga (Abdel-Aziz *et al.*, 2017; Tadesse *et al.*, 2018). Por el contrario, a mayor edad podrían presentarse infecciones de mayor severidad, y en el caso del embarazo, tener un impacto sobre el adecuado desarrollo y término de este. No se observó una asociación significativa entre la edad gestacional y la susceptibilidad para el desarrollo de UTI ( $p=0.284$ ), sin embargo, diversos autores han determinado que las UTI se desarrollan durante el segundo y, principalmente, durante el tercer trimestre, similar a lo reportado en el presente estudio (Hamdan *et al.*, 2011; Parveen *et al.*, 2012; Forson *et al.*, 2018). Además, se ha investigado la relación entre la presencia de UTI con el riesgo de desarrollar complicaciones, encontrando que las gestantes que presentaban infecciones durante los trimestres uno y tres tienen un mayor riesgo a desarrollar preeclampsia (Easter *et al.*, 2016). Se sugiere que la principal razón del desarrollo de estas infecciones durante este trimestre se debe a que la compresión mecánica ejercida por el útero grávido favorece el fenómeno de hidronefrosis del embarazo, lo cual favorece la estasis urinaria, produciendo como consecuencia un reflujo uretero-vesical que propicia el crecimiento bacteriano y el desarrollo de una UTI que, de no ser tratada, puede desencadenar un proceso inflamatorio severo y preeclampsia (Kalinderi *et al.*, 2018).

Por otro lado, en nuestro estudio las UTI se presentaron principalmente en pacientes multigestas (60 %). La relevancia del número de gestas es bastante controversial; mientras que algunos autores no han encontrado asociaciones claras entre ambos factores (Hamdan *et al.*, 2011; Easter *et al.*, 2016), otros han mostrado altas prevalencias en pacientes con estas características, reportando hasta un 58 % de UTI en pacientes multigestas (Siemeño *et al.*, 2016), similar a lo encontrado en nuestro estudio. En México, los escasos trabajos realizados han mostrado porcentajes alrededor del 50 % (Acosta-Terriquez *et al.*, 2014; Dautt-Leyva *et al.*, 2018) y han asociado el número de gestas como un factor de riesgo para el desarrollo de UTI; es decir, las pacientes multigestas tienen dos veces más riesgo de desarrollar UTI durante el embarazo y esto puede deberse a los múltiples cambios fisiológicos que sufre el tracto urinario durante la gestación y que en muchos casos son irreversibles, lo que predispone a las pacientes a padecer estas infecciones en embarazos subsecuentes (Emiru *et al.*, 2013). Después de realizar los urocultivos de nuestras pacientes, se determinó que *Escherichia coli* fue el microorganismo aislado más prevalente en las gestantes con UTI, presentándose en 9 (36 %), seguido de *Kluyvera cryocrescens* en 6 de las pacientes (24 %) de ellas, otras enterobacterias (6 pacientes, 24 %) e infecciones mixtas (4 pacientes, 16 %). En este sentido, Ifeanyichukwu *et al.* (2017) determinaron que el 34.2 %



(2017) determined that 34.2 % of their analyzed pregnant patients developed an infection caused by *Escherichia coli*. Forson *et al.* (2018) reported a 48 % prevalence of *E. coli* in their study population, while Kaduma *et al.* (2019) determined that 45 % of their patients had an infection caused by this same microorganism. In contrast, Parveen *et al.* (2012) reported a prevalence of over 80 % in infections in pregnant women. These differences in prevalences could be due to variability between the populations studied, such as gestational age or sanitary conditions.

On the other hand, antibiotic resistance in the different bacterial species is currently a serious public health problem; the UPEC strains isolated in this study showed high resistance against the antibiotics evaluated. 100 % of the isolates were resistant to ampicillin, 89 % to carbenicillin and cephalothin, 56 % to gentamicin and norfloxacin, 44 % to ciprofloxacin and netilmicin, 33 % to chloramphenicol and trimethoprim/sulfamethoxazole, 22 % to cefotaxime and 11 % of the isolates showed resistance to amikacin. On the other hand, intermediate resistance to nitrofurantoin (2), amikacin (1), carbenicillin (1), cephalothin (1), chloramphenicol (1) and gentamicin (1) was also found. It should be remarked that four of the isolates showed multidrug resistance to the antibiotics

de sus pacientes gestantes analizadas desarrollaron una infección ocasionada por *Escherichia coli*. Forson *et al.* (2018) reportaron una prevalencia de 48 % de *E. coli* en su población de estudio, mientras que Kaduma *et al.* (2019) determinaron que el 45 % de sus pacientes presentaban una infección ocasionada por este mismo microorganismo. De manera contrastante, Parveen *et al.* (2012) reportaron una prevalencia superior al 80 % en infecciones de mujeres embarazadas. Estas diferencias en las prevalencias podrían deberse a la variabilidad entre las poblaciones estudiadas, como edad gestacional o condiciones sanitarias.

Por otro lado, la resistencia a antibióticos en las diversas especies bacterianas es actualmente un grave problema de salud pública; las cepas de UPEC aisladas en este estudio mostraron una alta resistencia contra los antibióticos evaluados. El 100 % de los aislados fueron resistentes a ampicilina, 89 % a carbenicilina y cefalotina, 56 % a gentamicina y norfloxacin, 44 % a ciprofloxacina y netilmicina, 33 % a cloranfenicol y trimetoprim/sulfametoxazol, 22 % a cefotaxima y 11 % aislado presentó resistencia a amikacina. Por otro lado, también se encontró resistencia intermedia a nitrofurantoína (2), amikacina (1), carbenicilina (1), cefalotina (1), cloranfenicol (1) y gentamicina (1). Cabe señalar que cuatro de los aislados presentaron multirresistencia a los antibióticos evaluados (Tabla 3). Al respecto, diversos

**Table 3.**  
**Antimicrobial susceptibility profiles of UPEC isolates**

**Tabla 3.**  
**Perfiles de susceptibilidad a antimicrobianos de aislados de UPEC**

UPEC strain	Antimicrobials											
	AK	AM	CB	CF	CFX	CPF	CL	GE	NET	NF	NOF	SXT
U02	-	R	R	R	-	-	-	-	-	-	-	-
U10	R	R	R	R	-	-	R	R	R	-	R	-
U11	-	R	R	R	R	R	-	R	R	-	R	-
U13	-	R	R	R	-	-	I	-	-	-	-	-
U17	I	R	I	R	-	-	-	I	-	-	-	-
U05	-	R	R	R	-	R	R	R	R	I	R	R
U07	-	R	R	R	R	R	-	R	R	-	R	-
U15	-	R	R	I	-	R	R	R	-	-	R	R
U19	-	R	R	R	-	-	-	-	-	I	-	R

AK: Amikacin, AM: Ampicillin, CB: Carbenicillin, CF: Cephalothin, CFX: Cefotaxime, CPF: Ciprofloxacin, CL: Chloramphenicol, GE: Gentamicin, NET: Netilmicin, NF: Nitrofurantoin, NOF: Norfloxacin, SXT: Sulfamethoxazole/Trimethoprim. R: Resistant, I: Intermediate, (-): Susceptible.

AK: Amikacina, AM: Ampicilina, CB: Carbenicilina, CF: Cefalotina, CFX: Cefotaxima, CPF: Ciprofloxacina, CL: Cloranfenicol, GE: Gentamicina, NET: Netilmicina, NF: Nitrofurantoína, NOF: Norfloxacin, SXT: Sulfametoxazol/Trimetoprima. R: Resistente, I: Intermedio, (-): Susceptible.

evaluated (Table 3). In this regard, several authors have reported multidrug-resistant (MDR) strains in UPEC isolates from urinary tract infections (Calhau *et al.*, 2015; Morales-Espinosa *et al.*, 2016; Miranda-Estrada *et al.*, 2017; Paniagua-Contreras *et al.*, 2017; Shah *et al.*, 2019), but few studies evaluate these characteristics in strains isolated from infections during pregnancy. Ramos *et al.* (2012) isolated UPEC strains from pregnant patients from Sweden, Uganda and Vietnam, wherein the latter two countries multidrug-resistant strains were found mainly to ampicillin and trimethoprim. Similar data were obtained by Forson *et al.* (2018) who reported resistance to ampicillin (79.3 %), tetracycline (70.7 %) and trimethoprim/sulfamethoxazole (49 %). In previous studies conducted in Mexico, prevalences of 100 % resistance to ampicillin are observed (Ordaz-López *et al.*, 2016; Ballesteros-Monreal *et al.*, 2020). Several reports in Gram-negative microorganisms isolated from UTI have demonstrated the presence of  $\beta$ -lactamases, which is associated with high resistance to  $\beta$ -lactam antibiotics and, particularly, to ampicillin, carbenicillin and cephalothin, similar to that reported in the present study (Ramos *et al.*, 2012; Ifeanyi-chukwu *et al.*, 2017; Khoshnood *et al.*, 2017; Forson *et al.*, 2018). Added to this, several virulence factors possessed by UPEC strains could hinder proper treatment and induce complications in patients. Therefore, characterization of UPEC strains is essential to determine these possible associations.

The *agn43* gene was the most prevalent in isolated strains (Table 4); it encodes a surface molecule that is involved in bacterial survival and persistence, although its specific function in UPEC pathogenesis has not been determined (Ulett *et al.*, 2013; Flores-Mireles *et al.*, 2015). In addition to *agn43*, the other virulence factors found participate very importantly within the mechanism of UPEC pathogenicity; *papC* and *fimA* are genes that are part of an operon encoding for P-type and type 1 pili, respectively. Both pili are involved in adhesion and invasiveness processes during the establishment of UTIs. On the other hand, genes such as *iroN*, *fyuA*, and *iutA* found in strains from our patients are essential for iron uptake in an iron-limited microenvironment (Flores-Mireles *et al.*, 2015; Terlizzi *et al.*, 2017). Studies that perform genotyping of UTI isolates in pregnant patients are limited; most works perform this analysis in patients with community-acquired infections; hence, we consider our study of high relevance. Ramos *et al.* (2012) evaluated the presence of several virulence genes in

autores han reportado cepas multidrogresistentes (MDR) en aislados de UPEC de infecciones urinarias (Calhau *et al.*, 2015; Morales-Espinosa *et al.*, 2016; Miranda-Estrada *et al.*, 2017; Paniagua-Contreras *et al.*, 2017; Shah *et al.*, 2019), pero pocos estudios evalúan estas características en cepas aisladas de infecciones durante el embarazo. Ramos *et al.* (2012) aislaron cepas de UPEC de pacientes embarazadas de Suecia, Uganda y Vietnam, donde en estos dos últimos países se encontraron cepas multiresistentes principalmente a ampicilina y trimetoprim. Resultados similares fueron reportados por Forson *et al.* (2018) quienes reportaron resistencia a ampicilina (79.3 %), tetraciclina (70.7 %) y trimetoprim/sulfametoxazol (49 %). En estudios previos realizados en México, se observan prevalencias de 100 % de resistencia a ampicilina (Ordaz-López *et al.*, 2016; Ballesteros-Monreal *et al.*, 2020). Diversos reportes en microorganismos Gramnegativos aislados de UTI han demostrado la presencia de  $\beta$ -lactamasas, lo cual se asocia a la alta resistencia a antibióticos  $\beta$ -lactámicos y, particularmente, a ampicilina, carbenicilina y cefalotina, similar a lo reportado en el presente estudio (Ramos *et al.*, 2012; Ifeanyi-chukwu *et al.*, 2017; Khoshnood *et al.*, 2017; Forson *et al.*, 2018). Aunado a esto, los diversos factores de virulencia que poseen las cepas de UPEC podrían dificultar el tratamiento adecuado e inducir complicaciones en las pacientes que las presenten. Es por ello que la caracterización de las cepas de UPEC resulta fundamental para determinar estas posibles asociaciones.

El gen *agn43* fue el más prevalente en nuestras cepas estudiadas (Tabla 4); este codifica una molécula de superficie que se ha visto involucrada en sobrevivencia y persistencia bacteriana, aunque su función específica en la patogénesis de UPEC no ha sido determinada (Ulett *et al.*, 2013; Flores-Mireles *et al.*, 2015). Además de *agn43*, los otros factores de virulencia encontrados participan de manera muy importante dentro del mecanismo de patogenicidad de UPEC; *papC* y *fimA* son genes que forman parte de un operón que codifican para pili tipo P y tipo 1, respectivamente. Ambos pili están involucrados en procesos de adherencia e invasividad durante el establecimiento de las UTI. Por otro lado, los genes como *iroN*, *fyuA* e *iutA* encontrados en cepas de nuestros pacientes son esenciales para la obtención de hierro en un microambiente limitado de este nutrimento (Flores-Mireles *et al.*, 2015; Terlizzi *et al.*, 2017). Son limitados los estudios que realizan genotipificación de cepas aisladas de UTI en pacientes embarazadas; la mayoría de los trabajos realizan este análisis en pacientes de infecciones adquiridas en la comunidad; debido a esto, es que consideramos nuestro estudio de alta pertinencia. Ramos *et al.* (2012) evaluaron la presencia de varios genes de virulencia en cepas aisladas de

**Table 4.**  
**Molecular characterization of UPEC isolates**

**Tabla 4.**  
**Caracterización molecular de aislados de UPEC**

		Adhesins		Nutrition			Membrane
		<i>papC</i>	<i>fimA</i>	<i>iroN</i>	<i>fyuA</i>	<i>iutA</i>	<i>agn43</i>
U02		-	-	+	-	-	+
U10		-	-	+	-	-	+
U11		-	-	-	-	+	+
U13		+	+	+	+	+	+
U17		+	+	-	-	+	+
U05		+	+	+	-	+	-
U07		+	+	-	-	+	+
U15		+	+	-	+	-	+
U19		+	-	+	-	-	-
<b>Totals</b>	n	6	5	5	2	5	7
	%	67	55	55	22	55	78

(+) Presence or (-) Absence.

(+) Presencia o (-) Ausencia.

strains isolated from pregnant patients from different countries, finding a high prevalence of *agn43* in isolates from Uganda and a high prevalence of *iroN* in isolates from Sweden and Vietnam. In Mexico, Miranda-Estrada *et al.* (2017) and Ballesteros-Monreal *et al.* (2020) found that virulence factors related to adherence and iron acquisition were the most common among the strains isolated from their patients, which coincides with what was found in our study. Additionally, our UPEC isolates contained at least two virulence genes and a maximum of six. Several authors argue that the number of virulence genes possessed by a UPEC strain could be related to high pathogenicity and the ability to produce infections in different regions of the urinary tract.

## Conclusions

The results obtained in this study demonstrate the importance of providing adequate follow-up of UTIs in patients during pregnancy, since the strains that cause them have different virulence factors that allow them to adhere, invade and persist in the urinary tract; they also have different strategies to resist antibiotic treatment, thus making treatment difficult and increasing the

pacientes embarazadas de diferentes países, encontrando prevalencias elevadas de *agn43* en aislados de Uganda y alta prevalencia de *iroN* en aislados de Suecia y Vietnam. En México, Miranda-Estrada *et al.* (2017) y Ballesteros-Monreal *et al.* (2020) encontraron que los factores de virulencia relacionados a adherencia y adquisición de hierro fueron los más comunes entre las cepas aisladas de sus pacientes, lo cual coincide con lo encontrado en nuestro estudio. Adicionalmente, nuestras cepas de UPEC aisladas contienen como mínimo dos genes de virulencia y un máximo de seis. Diversos autores discuten que la cantidad de genes de virulencia que posee una cepa de UPEC podría relacionarse con una alta patogenicidad y capacidad de producir infecciones en diferentes regiones del tracto urinario.

## Conclusiones

Los resultados obtenidos en este trabajo demuestran la importancia de otorgar un seguimiento adecuado de las UTI en las pacientes durante el embarazo, ya que las cepas que las ocasionan cuentan con diferentes factores de virulencia que les permiten adherirse, invadir y persistir en el tracto urinario; además, cuentan con diferentes estrategias para resistir los tratamientos antibióticos, dificultando así su tratamiento y aumentando la posibilidad

possibility of triggering complications during pregnancy and at the same time, the risk of pre-term deliveries and the development of various sequelae in both the mother and the newborn.

de desencadenar complicaciones durante el embarazo y a la vez, el riesgo de partos pre-término y el desarrollo de diversas secuelas tanto en la madre como en el recién nacido.

## Acknowledgements

To María Teresa Estrada-García PhD, who kindly provided the strains used as controls for the standardization of the molecular assays. The present work was funded by the Programa de Fomento y Apoyo a Proyectos de Investigación 2015 of the Universidad Autónoma de Sinaloa, code PROFAPI2015/041.

## Agradecimientos

A la Dra. María Teresa Estrada García por la donación de las cepas utilizadas como control para la estandarización de los ensayos moleculares. El presente trabajo fue financiado por el Programa de Fomento y Apoyo a Proyectos de Investigación 2015 de la Universidad Autónoma de Sinaloa, clave PROFAPI2015/041.

## References

- Abdel-Aziz, E. M., Barnett-Vanes, A., Dabour, M.F.E., & Cheng, F. (2017). Prevalence of undiagnosed asymptomatic bacteriuria and associated risk factors during pregnancy: a cross-sectional study at two tertiary centres in Cairo, Egypt. *BMJ Open*, 7, e013198. <http://dx.doi.org/10.1136/bmjopen-2016-013198>
- Acosta-Terriquez, J. E., Ramos-Martínez, M. A., Zamora-Aguilar, L. M., & Murillo-Llanes, J. (2014). Prevalencia de infección de vías urinarias en pacientes hospitalizadas con amenaza de parto pretérmino. *Ginecología y Obstetricia de México*, 82(11), 737–743. <https://www.medigraphic.com/pdfs/ginobsmex/gom-2014/gom1411d.pdf>
- Ballesteros-Monreal, M. G., Arenas-Hernández, M. M. P., Enciso-Martínez, Y., Martínez-De la Peña, C. F., Rocha-Gracia, R. D. C., Lozano-Zaraín, P., Navarro-Ocaña, A., Martínez-Laguna, Y., & de la Rosa-López, R. (2020). Virulence and resistance determinants of uropathogenic *Escherichia coli* strains isolated from pregnant and non-pregnant women from two states in Mexico. *Infection and Drug Resistance*, 2020(13), 295–310. <https://doi.org/10.2147/IDR.S226215>
- Bien, J., Sokolova, O., & Bozko, P. (2012). Role of uropathogenic *Escherichia coli* virulence factors in development of urinary tract infection and kidney damage. *International Journal of Nephrology*, 2012: 681473. <https://doi.org/10.1155/2012/681473>
- Calderón-Jaimes, E. (2013). Diagnóstico y tratamiento de las infecciones en vías urinarias: un enfoque multidisciplinario para casos no complicados. *Boletín Médico Del Hospital Infantil de México*, 70(1), 3–10. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1665-11462013000100003](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1665-11462013000100003)
- Calhau, V., Domingues, S., Ribeiro, G., Mendonça, N., & Da Silva, G. J. (2015). Interplay between pathogenicity island carriage, resistance profile and plasmid acquisition in uropathogenic *Escherichia coli*. *Journal of Medical Microbiology*, 64(8). <https://doi.org/10.1099/jmm.0.000104>
- Clinical and Laboratory Standards Institute [CLSI]. (2017). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, approved standard, M100-S27. <https://clsi.org/standards/>
- Dautt-Leyva, J. G., Canizalez-Román, A., Acosta Alfaro, L. F., Gonzalez-Ibarra, F., & Murillo-Llanes, J. (2018). Maternal and perinatal complications in pregnant women with urinary tract infection caused by *Escherichia coli*. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*, 44(8), 1384–1390. <https://doi.org/10.1111/jog.13687>
- Easter, S. R., Cantonwine, D. E., Zera, C. A., Lim, K.-H., Parry, S. I., & McElrath, T. F. (2016). Urinary tract infection during pregnancy, angiogenic factor profiles, and risk of preeclampsia. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 214(3), 387.e1-387.e7. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2015.09.101>
- Emiru, T., Beyene, G., Tsegaye, W., & Melaku, S. (2013). Associated risk factors of urinary tract infection among pregnant women at Felege Hiwot Referral Hospital, Bahir Dar, North West Ethiopia. *BMC Research Notes*, 6(1), 292. <https://doi.org/10.1186/1756-0500-6-292>

- Flores-Mireles, A. L., Walker, J. N., Caparon, M., & Hultgren, S. J. (2015). Urinary tract infections: Epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. *Nature Reviews Microbiology*, 13, 269–284. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3432>
- Forson, A. O., Tsidi, W. B., Nana-Adjei, D., Quarchie, M. N., & Obeng-Nkuramah, N. (2018). Escherichia coli bacteriuria in pregnant women in Ghana: Antibiotic resistance patterns and virulence factors. *BMC Research Notes*, 11(1),901. <https://doi.org/10.1186/s13104-018-3989-y>
- Forsyth, V. S., Armbruster, C. E., Smith, S. N., Pirani, A., Springman, A. C., Walters, M. S., Nielubowicz, G. R., Himpls, S. D., Snitkin, E. S., & Mobley, H. L. T. (2018). Rapid growth of uropathogenic Escherichia coli during human urinary tract infection. *MBio*, 9(2). <https://doi.org/10.1128/mBio.00186-18>
- Foxman, B. (2014). Urinary tract infection syndromes. Occurrence, recurrence, bacteriology, risk factors, and disease burden. *Infectious Disease Clinics of North America*, 28(1), 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.idc.2013.09.003>
- Glaser, A. P., & Schaeffer, A. J. (2015). Urinary Tract Infection and Bacteriuria in Pregnancy. *Urologic Clinics of North America*, 42(4), 547–560. <https://doi.org/10.1016/j.ucl.2015.05.004>
- Guglietta, A. (2017). Recurrent urinary tract infections in women: Risk factors, etiology, pathogenesis and prophylaxis. *Future Microbiology*, 12(3), 239-246 <https://doi.org/10.2217/fmb-2016-0145>
- Guzman-Hernandez, R., Contreras-Rodriguez, A., Hernandez-Velez, R., Perez- Martinez, I., Lopez-Merino, A., Zaidi, M. B., & Estrada-Garcia, T. (2016). Mexican unpasteurised fresh cheeses are contaminated with Salmonella spp., non-O157 Shiga toxin producing Escherichia coli and potential uropathogenic E. coli strains: A public health risk. *International Journal of Food Microbiology*, 237, 10–16. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.08.018>
- Hamdan, H. Z., Ziad, A. H. M., Ali, S. K., & Adam, I. (2011). Epidemiology of urinary tract infections and antibiotics sensitivity among pregnant women at Khartoum North Hospital. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 10, 2–6. <https://doi.org/10.1186/1476-0711-10-2>
- Ifeanyichukwu, I., Elizabeth, O., Emmanuel, N., Nnabuiife, A., Chidinma, I., & Chika, Ejikeugwu. (2017). Antibigram of Uropathogenic Escherichia coli Isolates from Urine Samples of Pregnant Women Visiting St. Vincent Hospital Ndubia for Ante-Natal Care. *Journal of Molecular Biology and Biotechnology*. 2(3),6. <https://www.imedpub.com/articles/antibiogram-of-uropathogenic-escherichia-coli-isolates-from-urine-samples-of-pregnant-women-visiting-st-vincent-hospital-ndubia-fo.php?aid=20462>
- Kaduma, J., Seni, J., Chuma, C., Kirita, R., Mujuni, F., Mushi, M. F., Van Der Meer, F., & Mshana, S. E. (2019). Urinary tract infections and preeclampsia among pregnant women attending two hospitals in Mwanza City, Tanzania: A 1:2 Matched case-control study. *BioMed Research International*, 2019: 3937812 <https://doi.org/10.1155/2019/3937812>
- Kalinderi, K., Delkos, D., Kalinderis, M., Athanasiadis, A., & Kalogiannidis, I. (2018). Urinary tract infection during pregnancy: current concepts on a common multifaceted problem. *Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 38(4), 448–453. <https://doi.org/10.1080/01443615.2017.1370579>
- Khoshnood, S., Heidary, M., Mirnejad, R., Bahramian, A., Sedighi, M., & Mirzaei, H. (2017). Drug-resistant gram-negative uropathogens: A review. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 94,982-994. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.08.006>
- Matuszkiewicz-Rowińska, J., Małyszko, J., & Wieliczko, M. (2015). Urinary tract infections in pregnancy: Old and new unresolved diagnostic and therapeutic problems. *Archives of Medical Science*, 11(1), 67–77. <https://doi.org/10.5114/aoms.2013.39202>
- Miranda-Estrada, L. I., Ruiz-Rosas, M., Molina-López, J., Parra-Rojas, I., González- Villalobos, E., & Castro-Alarcón, N. (2017). Relación entre factores de virulencia, resistencia a antibióticos y los grupos filogenéticos de Escherichia coli uropatógena en dos localidades de México. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 35(7), 426–433. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2016.02.021>
- Morales-Espinosa, R., Hernández-Castro, R., Delgado, G., Mendez, J. L., Navarro, A., Manjarrez, Á., & Cravioto, A. (2016). UPEC strain characterization isolated from Mexican patients with recurrent urinary infections. *Journal of Infection in Developing Countries*, 10(4), 317–328. <https://doi.org/10.3855/jidc.6652>
- Ordaz-López, V. I., Manzo-Banales, H. M., García-Herrera, H., Cerda-Rivera, P. E., Ochoa, M. C., & Ramírez-Leyva, D. H. (2016). Urinary Tract Infection in Pregnancy: A Study of Pathogen and Bacterial Resistance in Mexico. *Journal*

- of *Family Medicine*, 3(11), 1–4. <https://austinpublishinggroup.com/family-medicine/fulltext/jfm-v3-id1097.php>
- Paniagua-Contreras, G. L., Monroy-Pérez, E., Rodríguez-Moctezuma, J. R., Domínguez-Trejo, P., Vaca-Paniagua, F., & Vaca, S. (2017). Virulence factors, antibiotic resistance phenotypes and O-serogroups of *Escherichia coli* strains isolated from community-acquired urinary tract infection patients in Mexico. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 50(4), 478–485. <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2015.08.005>
- Parveen, K., Momen, A., Begum, A. A., & Begum, M. (2012). Prevalence Of Urinary Tract Infection During Pregnancy. *Journal of Dhaka National Medical College & Hospital*, 17(2), 8–12. <https://doi.org/10.3329/jdnmch.v17i2.12200>
- Ramos, N. L., Sekikubo, M., Dzung, D. T. N., Kosnopfel, C., Kironde, F., Mirembe, F., & Brauner, A. (2012). Uropathogenic *Escherichia coli* isolates from pregnant women in different countries. *Journal of Clinical Microbiology*, 50(11), 3569–3574. <https://doi.org/10.1128/JCM.01647-12>
- Shah, C., Baral, R., Bartaula, B., & Shrestha, L. B. (2019). Virulence factors of uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) and correlation with antimicrobial resistance. *BMC Microbiology*, 19(1). <https://doi.org/10.1186/s12866-019-1587-3>
- Siemefo, K. F. de P., Maise, H. C., & Moodley, J. (2016). Pregnant women admitted with urinary tract infections to a public sector hospital in South Africa: Are there lessons to learn?. *Southern African Journal of Infectious Diseases*, 31(3), 79–83. <https://doi.org/10.1080/23120053.2016.1156305>
- Sivick, K. E., & Mobley, H. L. T. (2010). Waging war against uropathogenic *Escherichia coli*: Winning back the urinary tract. *Infection and Immunity*, 78(2), 568–585. <https://doi.org/10.1128/IAI.01000-09>
- Tadesse, S., Kahsay, T., Adhanom, G., Kahsu, G., Legese, H., Gwahid, A., & Derbie, A. (2018). Prevalence, antimicrobial susceptibility profile and predictors of asymptomatic bacteriuria among pregnant women in Adigrat General Hospital, Northern Ethiopia. *BMC Research Notes*, 11(1), 740. <https://doi.org/10.1186/s13104-018-3844-1>
- Taye, S., Getachew, M., Desalegn, Z., Biratu, A., & Mubashir, K. (2018). Bacterial profile, antibiotic susceptibility pattern and associated factors among pregnant women with Urinary Tract Infection in Goba and Sinana Woredas, Bale Zone, Southeast Ethiopia. *BMC Research Notes*, 11(1), 799. <https://doi.org/10.1186/s13104-018-3910-8>
- Terlizzi, M. E., Gribaudo, G., & Maffei, M. E. (2017). UroPathogenic *Escherichia coli* (UPEC) infections: Virulence factors, bladder responses, antibiotic, and non-antibiotic antimicrobial strategies. *Frontiers in Microbiology*, 8:1566. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01566>
- Ulett, G. C., Totsika, M., Schaale, K., Carey, A. J., Sweet, M. J., & Schembri, M. A. (2013). Uropathogenic *Escherichia coli* virulence and innate immune responses during urinary tract infection. *Current Opinion in Microbiology*, 16(1), 100–107. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2013.01.005>