DOI: 10.22122/jims.v37i560.12631 Published by Vesnu Publications

مجله دانشکده پزشکی اصفهان سال سی و هفتم/شماره‌ی ۵۶۰/هفته‌ی چهارم اسفند ۱۳۹۸

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۰/۲۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۱/۲۶ تاریخ چاپ: ۱۳۹۸/۱۲/۲۲

بررسی فراوانی ژن‌های سیدروفورهای irp2 و iroN در جدایه‌های بالینی باکتری Escherichia coli مولد عفونت‌های ادراری

فیروزه فراز[۱]، محسن میرزایی[۲]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: ژن‌های سیدروفور iroN و irp2 از مهم‌ترین ژن‌های تشدید کننده‌ی عفونت ادراری هستند، اما تا کنون فراوانی و ویژگی‌های این ژن‌ها مورد بررسی دقیق قرار نگرفته است. این مطالعه، با هدف تعیین شیوع ژن‌های سیدروفور irp2 و iroN جهت ارایه‌ی راهکار مناسبی برای مدیریت مقابله با باکتری‌های حامل ژن پیش‌گفته و نیز تهیه‌ی واکسن انجام شد.

روش‌ها: این مطالعه، یک مطالعه‌ی تجربی است که در سال ۱۳۹۸ در دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد به انجام رسید. در این مطالعه، ۱۰۰ نمونه از بیماران مبتلا به عفونت Escherichia coli از آزمایشگاه‌های بالینی سطح شهرستان بروجرد گرفته شد و بعد از شناسایی، DNA به روش جوشاندن استخراج گردید. سپس، Polymerase chain reaction (PCR) با کمک پرایمرهای اختصاصی انجام شد و فراوانی ژن‌های iroN و irp2 در آن‌ها بررسی گردید.

یافته‌ها: بررسی فراوانی ژن‌های سیدروفور در نمونه‌های مورد مطالعه نشان داد ۵۸ نمونه (۵۸ درصد) واجد ژن irp2، ۲۸ نمونه (۲۸ درصد) واجد ژن iroN، ۴ نمونه (۴ درصد) واجد هر دو ژن و ۱۰ نمونه (۱۰ درصد) از نظر هر دو ژن، منفی بود.

نتیجه‌گیری: نتایج مطالعه‌ی حاضر، نشان داد شیوع هر دو ژن‌های سیدروفور irp2 و iroN در نمونه‌های کشت داده شده، بالا بود، اما سیدروفور irp2 از شیوع بالاتری برخوردار است. همچنین، با توجه به شیوع بالای این ژن‌ها در زنان از یک سو و شیوع بالای باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌های با طیف گسترده از سوی دیگر، احتمال می‌رود این مطالعه و مطالعات مشابه دیگر می‌تواند مقدمه‌ای برای تهیه‌ی واکسن از شاخص‌های آنتی‌ژنیک سطح باکتری Escherichia coli باشد.

واژگان کلیدی: Escherichia coli، عفونت مجاری ادراری، سیدروفور، واکسن، بروجرد

ارجاع: فراز فیروزه، میرزایی محسن. **بررسی فراوانی ژن‌های سیدروفورهای irp2 و iroN در جدایه‌های بالینی باکتری Escherichia coli مولد عفونت‌های ادراری.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۸؛ ۳۷ (۵۶۰): ۱۴۵۳-۱۴۴۸

مقدمه

مطالعات نشان داده است که سویه‌های Escherichia coli مولد عفونت ادراری دارای عوامل ویرولانس متعددی هستند و شیوع این عوامل با بیماری‌زایی ادراری در ارتباط است (۱). از میان تمام عوامل بیماری‌زایی در باکتری irp2، iroN، iha، usp، همولیزین (hly)، آئروباکتین (eae)، عامل Fim و عوامل دیگری مانند irp2، iroN، iha و usp نقش اصلی را در بروز عفونت ادراری دارند (۲).

حضور این ژن‌های ویرولانس، سبب چسبندگی و تهاجم Escherichia coli به سلول‌های اپی‌تلیوم مجاری ادراری و همچنین، تولید سیتوکاین، عوامل التهابی، آپوپتوز سلول‌های دفاعی و جلوگیری از فاگوسیتوز می‌شود. اتصال باکتری به سلول‌های اپی‌تلیال یک مرحله‌ی ضروری برای شروع و گسترش عفونت ادراری می‌باشد. این فرایند، به باکتری اجازه می‌دهد تا در مقابل عملکرد شستشوی ادرار، تخلیه‌ی مثانه و فعال شدن مسیرهای انتقال پیام در میزبان مقاومت کند. سویه‌های Strains of uropathogenic Escherichia coli (UPEC)، قادر هستند انواع متفاوتی از چسبنده‌ها را برای اتصال به گیرنده‌های مجاری ادراری را تولید کنند، از جمله fimbria نوع یک، P fimbria و S fimbria که به ترتیب توسط ژن‌های fim، pap و

۱- گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد بروجرد، بروجرد، ایران

۲- استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم پایه، واحد بروجرد، دانشگاه آزاد اسلامی، بروجرد، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: فیروزه فراز؛ گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد بروجرد، بروجرد، ایران

Email: ffaraz80@gmail.com

This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 Unported License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

sfa کد می‌شوند (۳). تولید توکسین‌ها مانند همولیزین و سایتوتوکسیک نکروزیتینگ، باعث آسیب بافتی می‌شود که انتشار باکتری و ترشح مواد غذایی میزبان را تسهیل می‌کند و ممکن است باعث تغییر مسیرهای انتقال پیام در میزبان شود (۴).

آهن، از جمله عوامل مؤثر در ویرولانس باکتری می باشد و باکتری به واسطه‌ی تولید ترکیبات شلاته کننده‌ی آهن مانند آئروباکتین، با پروتئین‌های شلاته کننده‌ی آهن موجود در بدن رقابت می کند و آهن را از آن‌ها می‌گیرد. ژن aer سیدروفور آئروباکتین را کد می‌کند. تاکنون، بیش از ۵۰۰ نوع سیدروفور شناسایی شده است (۵). انتقال کمپلکس فریک- سیدروفور از غشای خارجی وابسته به انرژی تولید شده از طریق نیروی محرکه‌ی پروتون (Proton motive force یا PMF) و کمپلکس TonB–ExbB-ExbD انجام می‌گیرد. در شرایط کمبود آهن، سیدروفوری به نام انتروباکتین از Escherichia coli به محیط ترشح می شود که به پروتئین‌های غشایی به نام FepA متصل می‌شود و به وسیله‌ی آن، در فضای پری‌پلاسمیک آزاد می‌گردد (۵).

FepB، پروتئینی در فضای پری‌پلاسمیک است که به کمپلکس فریک-انتروباکتین متصل می‌شود و آن را از فضای پری‌پلاسمیک عبور می‌دهد و در اختیار انتقال دهنده‌ی ABC در غشای سیتوپلاسمیک می‌گذارد تا فعالانه از غشای سیتوپلاسمی عبور کند. باکتری‌های UPEC از طیف گسترده‌ای از گیرنده‌ها برای کسب آهن به منظور رشد و تکثیر خود استفاده می‌کنند که این امر، به ویژه در محدودیت آهن در مجاری ادراری اهمیت فراوانی دارد؛ چرا که غلظت آهن در عفونت‌های خارج روده‌ای به علت عوامل میزبانی محدود می‌گردد و از این رو، کسب آهن برای رشد باکتری در چنین فضایی ضروری است (۶).آهن در این نواحی بسیار کم است و همراه با پروتئین‌های ذخیره‌ای در داخل یا خارج سلول با ترنسفرین و لاکتوفرین دیده می‌شود. حدود ۲۳ پروتئین غشای خارجی در سطح این باکتری شناسایی شده است که عامل تحریک سیستم ایمنی می‌باشند و شایع‌ترین آن‌ها، گیرنده‌های سیدروفور کد شده توسط ژن irp2 و iroN هستند (۷).

با توجه به تعدد عوامل ویرولانس سویه‌های Escherichia coli مولد عفونت ادراری و با توجه به افزایش روزافزون عفونت‌های مرتبط با این باکتری و متفاوت بودن عوامل دخیل در بیماری‌زایی باکتری، این مطالعه با هدف تعیین فراوانی ژن‌های سیدروفورهای irp2 و iroN در جدایه‌های بالینی باکتری Escherichia coli مولد عفونت‌های ادراری انجام شد.

روش‌ها

این مطالعه، یک مطالعه‌ی تجربی بود که بر روی ۱۰۰ نمونه ی جمع‌آوری شده از بیماران مشکوک به عفونت مجاری ادراری مراجعه کننده به آزمایشگاه‌های بالینی خصوصی، مراکز بهداشت و بیمارستان‌های دولتی شهرستان بروجرد در سال ۱۳۹۸ انجام شد.

معیارهای ورود به مطالعه، شامل بیماران مبتلا به عفونت ادراری و مثبت بودن نتیجه‌ی کشت ادراری از نظر عفونت Escherichia coli بود. همچنین، نمونه‌های فاقد کیفیت و کمیت و همچنین، نمونه‌های دارای نتیجه‌ی مشکوک، از مطالعه خارج شدند.

حجم نمونه ی مورد نیاز مطالعه با استفاده از فرمول برآورد حجم نمونه جهت مطالعات شیوع و با در نظر گرفتن سطح اطمینان ۹۵ درصد، فراوانی ژن‌های سیدروفورهای irp2 و iroN در جدایه‌های بالینی باکتری Escherichia coli که به علت نبود مطالعه ی مشابه، به میزان ۰/۵ در نظر گرفته شد و پذیرش میزان خطای ۰/۱ به تعداد ۱۰۰ نمونه تعیین گردید.

نمونه‌های جمع‌آوری شده از بیماران بلافاصله به آزمایشگاه دانشکده‌ی علوم پایه‌ی دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد انتقال داده شد. پس از انجام آزمایش‌ها بر روی محیط‌های Blood agar و MacConkey agar و رنگ‌آمیزی گرم، نمونه‌ها به منظور بررسی رشد و ویژگی‌های ریخت‌شناسی به محیط Brain heart infusion broth (BHI broth) گلیسرول‌دار منتقل شدند. برای ساخت این محیط، از محیط پایه ۲۰ میلی‌لیتر جدا و به آن ۲۰ میلی‌لیتر گلیسرول اضافه شد. نمونه‌ها ۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه ی سانتی‌گراد انکوبه شدند. سپس، برای مراحل بعدی در دمای ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد فریز شدند. به منظور جداسازی باکتری Escherichia coli از سایر باسیل‌های گرم منفی و انتروباکتریاسه از محیط‌های بیوشیمیایی و افتراقی نظیر Triple sugar iron (TSI)، Sulfide indole motility (SIM)، Simmons' citrate و Urease استفاده شد.

به منظور انجام PCR، DNA نمونه‌های Escherichia coli موارد عفونت ادراری به روش جوشاندن استخراج شد. برای این منظور، ۱۰۰ نمونه ی فریز شده که از قبل تعیین هویت شده بودند، از محیط BHI broth گلیسرول‌دار یخی توسط سمپلر به محیط BHI بدون گلیسرول انتقال داده شد و سپس، به مدت ۲۴-۲۰ ساعت در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد انکوبه و پس از آن، به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. آن گاه، محلول رویی جدا شد و ۵۰۰ میکرولیتر آب‌مقطر تزریقی به آن اضافه و آرام آرام سمپلینگ شد. سپس، در دستگاه ترموبلاک در دمای ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه شوک حرارتی داده شد تا سلول‌ها تجزیه شوند. بعد از آن، دوباره ۵ دقیقه با شتاب ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس، محلول رویی در ۳ ویال و یا به عبارتی در ۳ میکروتیوب ۰/۲ میلی‌لیتر فریز

شد و جهت بررسی غلظت DNA توسط دستگاه اسپکتروفتومتری آزمایش گردید.

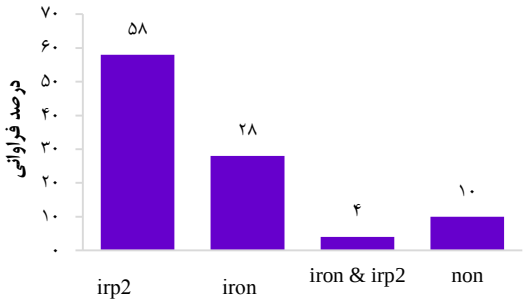
پس از استخراج DNA با استفاده از جفت پرایمر، تکثیر ژن‌ها صورت گرفت. پرایمر ژن‌های irp2 و iroN پس از Blast نمودن از طریق سایت National Center for Biotechnology Information (NCBI) به صورت لیوفلیزه از شرکت سیناکلون برای انجام واکنش PCR تهیه شدند. ایزوله‌های مولد عفونت ادراری با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ژن‌های irp2 و iroN که از قبل رقیق شده بودند، به روش ژنوتیپی PCR در دستگاه ترموسایکلر (BIORAD) از نظر وجود ژن‌های مورد مطالعه بررسی شدند. جهت انجام PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر از دستگاه ترموسایکلر اپندروف دارای شیب دمایی برای تکثیر امپلیکون ۶۶۸ و ۴۱۳ جفت‌باز استفاده شد. تعداد چرخه‌ی PCR ۳۵ چرخه و دمای اتصال پرایمر ۶۰ درجه‌ی سانتی‌گراد بود. به منظور تعیین دمای بهینه‌ی اتصال، از نرم‌افزار آنلاین Tm Calaculator استفاده گردید. پس از اتمام کار دستگاه ترموسایکلر الکتروفورز محصولات PCR روی ژل آگار ۱/۵ درصد در کنار Ladder ۱۰۰۰–۱۰۰ جفت‌باز و رنگ DNA Safe Stain در دستگاه الکتروفورز انجام شد و نتیجه‌ی کار در دستگاه ژل‌داک (شرکت Vilber) قرار داده شد.

داده‌های به دست آمده، در نهایت وارد نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۲ (version 22, IBM Corporation, Armonk, NY) شد و با آزمون‌های آماری χ^2 و t مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها

در این مطالعه، ۱۰۰ ایزوله‌ی Escherichia coli، متعلق به ۱۰۰ بیمار بستری با روش PCR مورد مطالعه قرار گرفت. میانگین سن بیماران تحت مطالعه، ۶/۱۹ ± ۳۰/۰۸ سال با دامنه‌ی ۴۰–۲۰ سال بود. از نظر توزیع جنسی، ۵۹ نفر از بیماران، زن و ۴۱ نفر مرد بودند. میانگین سنی مردان و زنان به ترتیب ۶/۸۳ ± ۲۸/۹۹ سال و ۵/۵۷ ± ۳۰/۲۲ سال بود و تفاوت معنی‌داری بین دو گروه دیده نشد (P = ۰/۷۹۰).

بررسی فراوانی ژن‌های سیدروفور در نمونه‌های مورد مطالعه نشان داد ۵۸ نمونه (۵۸ درصد) واجد ژن irp2، ۲۸ نمونه (۲۸ درصد) واجد ژن iroN، ۴ نمونه (۴ درصد) واجد هر دو ژن و ۱۰ نمونه (۱۰ درصد) از نظر هر دو ژن، منفی بودند (شکل ۱).



شکل ۱. درصد فراوانی دو ژن سیدروفور در ۱۰۰ نمونه‌ی ایزوله‌ی Escherichia coli

برابر نتایج مطالعه‌ی حاضر، ۳۱ درصد ژن‌های irp2 در مردان و ۶۹ درصد در زنان مشاهده شد. همچنین، ۴۶/۴ درصد iroN در مردان و ۵۳/۶ درصد در زنان دیده شد. هم زمانی هر دو ژن نیز در ۴ نفر دیده شد که هر ۴ نفر (۱۰۰ درصد) زن بودند. در مقابل، در ۱۰ بیمار هیچ یک از دو ژن دید ه نشد که هر ۱۰ نفر مرد بودند. برابر آزمون χ^2 فراوانی ژن‌های سیدروفور بر حسب جنس تفاوت معنی‌داری داشت (P < ۰/۰۰۱).

ازنظر توزیع سنی، میانگین سنی بیماران واجد ژن irp2، ۶/۰۶ ± ۲۹/۰۳ سال، میانگین سن بیماران واجد ژن iroN ۶/۲۲ ± ۳۰ سال، بیماران واجد هر دو ژن ۶/۵ ± ۳۲/۲۵ سال و بیماران فاقد هر دو ژن ۴/۰۶ ± ۳۵/۵ سال بود و طبق آزمون One-way ANOVA، میانگین سن بیماران بر حسب نوع ژن تفاوت معنی‌داری داشت (P = ۰/۰۱۸). نتایج در جدول ۱ آمده است.

پس از مشاهده‌ی ژن‌ها بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد، ایزوله‌ها باندهایی به طول ۶۶۸ جفت‌باز و ۴۱۳ جفت‌باز به وجود آوردند که به ترتیب مربوط به ژن‌های iroN و irp2 بودند که در کنار ایزوله‌هایی از Ladder ۱۰۰۰–۱۰۰ جفت‌بازی نشانگر DNA نیز استفاده شد.

جدول ۱. توزیع سنی و جنسی بیماران بر حسب شیوع ژن‌های سیدروفور

متغیر		نتیجه‌ی نمونه				
		Irp2	iroN	Irp2 & iroN	منفی	
میانگین سن (سال)		۶/۰۶ ± ۲۹/۰۳	۶/۲۲ ± ۳۰/۰۰	۶/۵۰ ± ۳۲/۲۵	۴/۰۶ ± ۳۵/۵۰	۰/۰۱۸
جنس	مرد	۱۸ (۳۱)	۱۳ (۴۶/۴)	۰ (۰)	۱۰ (۱۰۰)	< ۰/۰۰۱
	زن	۴۰ (۶۹)	۱۵ (۵۳/۶)	۴ (۱۰۰)	۰ (۰)	

مطابق شکل ۲، محصول PCR ژن‌های سیدروفور irp2 و iroN روی ژل آگارز ۱/۵ درصد شامل ستون اول DNA Ladder (۱۰۰۰-۱۰۰ جفت‌باز)، ستون دوم شاهد مثبت برای ژن سیدروفور (irp2 به طول ۴۱۳ جفت‌باز)، ستون سوم شاهد منفی برای ژن سیدروفور (irp2 به طول ۴۱۳ جفت‌باز)، ستون چهارم (Sample irp2)، ستون پنجم شاهد مثبت برای ژن سیدروفور (iroN به طول ۶۶۸ جفت‌باز)، ستون ششم شاهد منفی برای ژن سیدروفور (iroN به طول ۶۶۸ جفت‌باز) و ستون هفتم iroN (Sample) بوده است.

شکل ۲. محصول **Polymerase chain reaction** (**PCR**) ژن‌های سیدروفور **irp2** و **iroN** روی ژل آگارز ۱/۵ درصد

بحث

این مطالعه با هدف بررسی فراوانی ژن‌های سیدروفورهای irp2 و iroN در جدایه‌های بالینی باکتری Escherichia coli مولد عفونت‌های ادراری انجام گرفت. برابر یافته‌های مطالعه ی حاضر، در نمونه‌های مورد بررسی شیوع ژن‌های سیدروفور irp2 و iroN، ۷۶ درصد و نسبت به iroN بیشتر بود. از طرف دیگر، شیوع ژن‌های سیدروفور در زنان شایع‌تر از مردان بود که این امر، می‌تواند به خاطر تفاوت آناتومی مجاری ادراری آن‌ها باشدکه این نتیجه، در مطالعات دیگر به چشم می‌خورد (۸). در یک مطالعه که توسط Johnson در ایران صورت گرفته است، شیوع ژن سیدروفور irp2 بالاتر از ژن iroN بوده است (۸). همچنین، در مطالعه‌ی عبدی و رشکی در زاهدان، شیوع irp2 در زنان شایع‌تر از مردان بوده است (۹)، اما در مطالعه ی صفرپور دهکردی و همکاران، فراوانی ژن iroN بیشتر بوده است (۱۰). در مطالعه‌ی دیگری که توسط Fertas-Aissani و همکاران انجام گرفت نیز نشان داده شده است که سویه‌های Escherichia coli واجد ژن‌های سیدروفور از بیماری‌زایی بالاتری برخوردار بوده و میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی آن‌ها بالاتر است (۱۱).

در مجموع، مطالعات متعددی نشان داده است باکتری‌های واجد ژن‌های سیدروفور از حدت و شدت بیماری‌زایی بالاتری برخوردار هستند (۱۳-۱۲). در مطالعه‌ای که توسط Paniagua-Contreras و همکاران در بررسی ۱۹۲ بیمار مبتلا به عفونت ادراری به واسطه‌ی Escherichia coli، ۸۷/۱ درصد نمونه‌های با بیماری‌زایی شدید، واجد ژن irp2 بوده‌اند (۱۴).

نتایج مطالعه ی حاضر نشان داد فراوانی ژن‌های سیدروفور، بیشتر در بیماران با دامنه ی سنی ۴۰-۲۰ سال قرار داشت (P = ۰/۰۱۸). همچنین، شیوع این ژن‌ها در زنان بالاتر بود (P < ۰/۰۰۱). در واقع، به لحاظ ساختار آناتومی بدن زنان، این عفونت در بین زنان شیوع بیشتری دارد (۱۵). همچنین، عفونت‌زایی با این سویه از باکتری، در بیماران سرپایی که به آزمایشگاه‌های خصوصی مراجعه نموده‌اند نشان داده است که شیوع عفونت زایی آن تا ۷۰ درصد بوده است (۱۵). در مطالعه‌ی دیگری که توسط Lavigne و همکاران انجام گرفته است، شیوع عفونت ادراری به واسطه‌ی سویه‌های Escherichia coli در زنان به طور معنی‌داری بالاتر از مردان بوده است (۱۶). همچنین، در نتایج مطالعه ی Henderson و همکاران، شیوع عفونت ادراری ناشی از Escherichia coli در زنان به طور بسیار معنی‌داری بالاتر بوده و به علاوه، شایع ترین گروه سنی مبتلا، گروه سنی ۲۹-۲۰ ساله بوده است (۱۷).

در عین حال، ذکر این نکته ضروری به نظر می رسد که نتایج به دست آمده از این مطالعه، مربوط به ایزوله های شهرستان بروجرد می‌باشد. از این رو، ضمن انجام مطالعات بیشتر در این زمینه باید نتایج به دست آمده را با توجه به زمان انجام مطالعه، تعداد ایزوله های جمع‌آوری شده، منطقه‌ی جغرافیایی، سطح بهداشت، بحث ژنتیک میزبان، سابقه‌ی خانوادگی و غیره مورد تحلیل قرار داد.

نتیجه‌گیری نهایی این که با توجه به شیوع بالای ژن‌های سیدروفور irp2 و iroN در زنان از یک سو و شیوع بالای باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌های با طیف وسیع از سوی دیگر، احتمال می‌رود این مطالعه و مطالعات مشابه دیگر، می‌تواند مقدمه‌ای برای تهیه‌ی واکسن از شاخص‌های آنتی‌ژنیک سطح باکتری Escherichia coli باشد.

تشکر و قدردانی

مقاله‌ی حاضر حاصل پایان‌نامه‌ی کارشناسی ارشد میکروبیولوژی به شماره‌ی ۱۱۲۳۰۵۴۸۹۷۲۰۲۰ از دانشگاه آزاد واحد بروجرد می‌باشد. از این رو، نویسندگان مقاله از همکاری پرسنل آزمایشگاه‌های بالینی

خصوصی، مرکز بهداشت و درمان و بیمارستان دولتی امام (ره) شهرستان بروجرد و همچنین، کمک بی‌دریغ خانم دکتر سمیه سبزعلی که نهایت همکاری را در انجام این پژروهش مبذول داشتند، تقدیر و تشکر می‌نمایند.

References

1. Brannon JR, Burk DL, Leclerc JM, Thomassin JL, Portt A, Berghuis AM, et al. Inhibition of outer membrane proteases of the omptin family by aprotinin. Infect Immun 2015; 83(6): 2300-11.
2. Narvaez-Bravo C, Echeverry A, Miller MF, Rodas-Gonzalez A, Brashears MT, Aslam M, et al. Virulence characterization and molecular subtyping of typical and atypical Escherichia coli O157:H7 and O157:H(-) isolated from fecal samples and beef carcasses in Mexico. J Food Prot 2015; 78(2): 264-72.
3. Johnson JR, Stell AL. Extended virulence genotypes of Escherichia coli strains from patients with urosepsis in relation to phylogeny and host compromise. J Infect Dis 2000; 181(1): 261-72.
4. Wiles TJ, Dhakal BK, Eto DS, Mulvey MA. Inactivation of host Akt/protein kinase B signaling by bacterial pore-forming toxins. Mol Biol Cell 2008; 19(4): 1427-38.
5. Crosa JH. Genetics and molecular biology of siderophore-mediated iron transport in bacteria. Microbiol Rev 1989; 53(4): 517-30.
6. Okeke IN, Scaletsky IC, Soars EH, Macfarlane LR, Torres AG. Molecular epidemiology of the iron utilization genes of enteroaggregative Escherichia coli. J Clin Microbiol 2004; 42(1): 36-44.
7. Darnton NC, Turner L, Rojevsky S, Berg HC. On torque and tumbling in swimming Escherichia coli. J Bacteriol 2007; 189(5): 1756-64.
8. Johnson JR. Virulence factors in Escherichia coli urinary tract infection. Clin Microbiol Rev 1991; 4(1): 80-128.
9. Abdi H A, Rashki A. The phylogenetic study of Uropathogenic Escherichia coli strains in Sistan of Iran. J Birjand Univ Med Sci 2014; 21(3): 385-93. [In Persian].
10. Safarpourdehkourdi F, Momtaz H, Esmailzade S, Khayyat Khameneie M, Yahaghi E. Detection of virulence factors of Uropathoigenic Escherichia coli isolates from infertile women high vaginal swabs. Iran J Med Microbiol 2014; 7(4): 1-8. [In Persian].
11. Griebling TL. Urologic diseases in America project: trends in resource use for urinary tract infections in women. J Urol 2005; 173(4): 1281-7.
12. El Fertas-Aissani R, Messai Y, Alouache S, Bakour R. Virulence profiles and antibiotic susceptibility patterns of Klebsiella pneumoniae strains isolated from different clinical specimens. Pathol Biol (Paris) 2013; 61(5): 209-16.
13. Koczura R, Kaznowski A. Occurrence of the Yersinia high-pathogenicity island and iron uptake systems in clinical isolates of Klebsiella pneumoniae. Microb Pathog 2003; 35(5): 197-202.
14. Mokracka J, Koczura R, Kaznowski A. Yersiniabactin and other siderophores produced by clinical isolates of Enterobacter spp. and Citrobacter spp. FEMS Immunol Med Microbiol 2004; 40(1): 51-5.
15. Paniagua-Contreras GL, Monroy-Perez E, Rodriguez-Moctezuma JR, Dominguez-Trejo P, Vaca-Paniagua F, Vaca S. Virulence factors, antibiotic resistance phenotypes and O-serogroups of Escherichia coli strains isolated from community-acquired urinary tract infection patients in Mexico. J Microbiol Immunol Infect 2017; 50(4): 478-85.
16. Lavigne JP, Blanc-Potard AB, Bourg G, Moreau J, Chanal C, Bouziges N, et al. Virulence genotype and nematode-killing properties of extra-intestinal Escherichia coli producing CTX-M beta-lactamases. Clin Microbiol Infect 2006; 12(12): 1199-206.
17. Henderson JP, Crowley JR, Pinkner JS, Walker JN, Tsukayama P, Stamm WE, et al. Quantitative metabolomics reveals an epigenetic blueprint for iron acquisition in uropathogenic Escherichia coli. PLoS Pathog 2009; 5(2): e1000305.

DOI: 10.22122/jims.v37i560.12631 Published by Vesnu Publications

Journal of Isfahan Medical School Vol. 37, No. 560, 4th Week, March 2020

Received: 15.01.2020 Accepted: 15.02.2020 Published: 12.03.2020

The Frequency of Sidrophores irp2 and iroN encoding Genes in Escherichia Coli Clinical Isolates

Firozeh Faraz[1], Mohsen Mirzaei[2]

Original Article

Abstract

Background: The most important genes that exacerbate urinary tract infection are the siderophore genes, iroN and irp2. The aim of this study was to investigate the prevalence of siderophore genes irp2 and iroN in order to provide a suitable solution for the management of the bacteria carrying the mentioned gene as well as the preparation of a vaccine.

Methods: This experimental study was done in Boroujerd Branch, Islamic Azad University, Iran. 100 samples were obtained from clinical laboratories in Boroujerd City. After identification of DNA extraction by boiling method, polymerase chain reaction (PCR) was performed using specific primers.

Findings: Frequency of siderophore genes in the studied samples showed that 58 (58%) had irp2 gene, 28 (28%) had iroN gene, 4 (4%) had two genes, and 10 (10%) of both genes were negative.

Conclusion: The results of our study showed that the prevalence of both siderophores irp2 and iroN genes was high in the cultured samples, but siderophores irp2 had higher prevalence. Moreover, given the high prevalence of these genes in women on the one hand, and the high prevalence of broad-spectrum antibiotic-resistant bacteria on the other hand, it is likely that this and other similar studies could be a prelude to vaccine preparation for bacterial surface antigens of Escherichia coli.

Keywords: Escherichia coli, Urinary tract infection, Siderophores, Vaccine, Iran

Citation: Faraz F, Mirzaei M. **The Frequency of Sidrophores irp2 and iroN encoding Genes in Escherichia Coli Clinical Isolates.** J Isfahan Med Sch 2020; 37(560): 1448-53.

1- Department of Biology, School of Basic Sciences, Boroujerd Branch, Islamic Azad University, Boroujerd, Iran
2- Assistant Professor, School of Basic Sciences, Boroujerd Branch, Islamic Azad University, Boroujerd, Iran
Corresponding Author: Firozeh Faraz; Department of Biology, School of Basic Sciences, Boroujerd Branch, Islamic Azad University, Boroujerd, Iran; Email: ffaraz80@gmail.com