

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 ویروانس متعددی هستند و شیوع این عوامل با بیماری‌زایی ادراری در ارتباط است (۱). از میان تمام عوامل بیماری‌زایی در باکتری irp2، iron، usp، iha، همولیزین (hly)، آئروباکتین (eae)، عامل Fim و عوامل دیگری مانند iron، irp2 و iha نقش اصلی را در بروز عفونت ادراری دارند (۲).

حضور این ژن‌های ویروانس، 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 pap، fim 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

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 نمونه‌ی 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 مطالعه‌ی 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 درجه‌ی 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 *(TSI) Triple sugar iron motility*، *Sulfide indole*، *(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 نمونه‌ی 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 آب مقطر 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 میکروتیوپ ۰/۲ میلی‌لیتر فریز

sfa کد می‌شوند (۳). تولید توکسین‌ها مانند همولیزین و سایتوتوکسیک نکروزینینگ، 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 ویروالانس باکتری می‌باشد و باکتری به واسطه‌ی تولید ترکیبات شلاته کننده‌ی آهن مانند آئروباکترین، با پروتئین‌های شلاته کننده‌ی آهن موجود در بدن رقابت می‌کند و آهن را از آن‌ها می‌گیرد. ژن *aer* سیدروفور آئروباکترین 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 انتروباکترین از *Escherichia coli* به محیط ترشح می‌شود که به پروتئین‌های غشایی به نام *FepA* متصل می‌شود و به وسیله‌ی آن، در فضای پری‌پلاسمیک آزاد می‌گردد (۵).

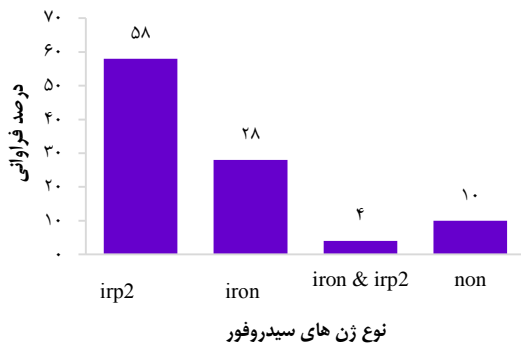
FepB، پروتئینی در فضای پری‌پلاسمیک است که به کمپلکس فریک-انتروباکترین متصل می‌شود و آن را از فضای پری‌پلاسمیک عبور می‌دهد و در اختیار انتقال دهنده‌ی *ABC* در غشای سیتوپلاسمیک می‌گذارد تا فعالانه از غشای سیتوپلاسمی عبور کند. باکتری‌های *UPEC* از طیف گسترده‌ای از گیرنده‌ها برای کسب آهن به منظور رشد و تکثیر 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 ویروالانس 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

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 دیده نشد که هر ۱۰ نفر مرد بودند. برابر آزمون χ^2 فراوانی ژن‌های سیدروفور بر حسب جنس تفاوت معنی‌داری داشت ($P < 0/001$).

از نظر 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 ($P = 0/018$). 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.

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 اداری 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 Calculator استفاده گردید. پس از اتمام کار دستگاه ترموسایکلر الکتروفورز محصولات PCR روی ژل آگار ۱/۵ درصد در کنار Ladder ۱۰۰-۱۰۰۰ 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 ($P = 0/790$). بررسی فراوانی ژن‌های سیدروفور در نمونه‌های مورد مطالعه نشان داد ۵۸ نمونه (۵۸ درصد) واجد ژن *irp2* ۲۸ نمونه

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

متغیر	نتیجه‌ی نمونه			
	منفی	Irp2 & iroN	iroN	Irp2
میانگین سن (سال)	۰/۰۱۸	۳۵/۵۰ ± ۴/۰۶	۳۲/۲۵ ± ۶/۵۰	۲۹/۰۳ ± ۶/۰۶
جنس				
مرد	< 0/001	۱۰ (۱۰۰)	۰ (۰)	۱۳ (۴۶/۴)
زن		۰ (۰)	۴ (۱۰۰)	۱۵ (۵۳/۶)
				۴۰ (۶۹)

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 (۱۲-۱۳). 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 مطالعه‌ی حاضر نشان داد فراوانی ژن‌های سیدروفور، بیشتر در بیماران با دامنه‌ی سنی ۲۰-۴۰ 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، نتایج مطالعه‌ی Henderson و همکاران، شیوع عفونت ادراری ناشی از *Escherichia coli* در زنان به طور بسیار معنی‌داری بالاتر بوده و به علاوه، شایع‌ترین گروه سنی مبتلا، گروه سنی ۲۹-۲۰ ساله بوده است (۱۷).

در عین حال، ذکر این نکته ضروری به نظر می‌رسد که نتایج به دست آمده از این مطالعه، مربوط به ایزوله‌های 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 ایزوله‌های 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

مطابق شکل ۲، محصول PCR ژن‌های سیدروفور *irp2* و *iroN* روی ژل آگارز ۱/۵ درصد شامل ستون اول DNA Ladder به طول 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 (Sample *iroN*) 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 مطالعه‌ی 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 باشد که 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 مطالعه‌ی 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

که نهایت همکاری را در انجام این پژوهش مبذول داشتند، تقدیر و تشکر می‌نمایند.

خصوصی، مرکز بهداشت و درمان و بیمارستان دولتی امام (ره) شهرستان بروجرد و همچنین، کمک بی‌دریغ خانم دکتر سمیه سیزعلی

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 Uropathogenic *Escherichia coli* isolates from infertile women high vaginal swabs. *Iran J Med Microbiol* 2014; 7(4): 1-8. [In Persian].
11. Griebing 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.

The Frequency of Siderophores irp2 and iron encoding Genes in Escherichia Coli Clinical Isolates

Firozeh Faraz¹, Mohsen Mirzaei²

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 Siderophores 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