جداسازی گونه های جنس کلبسیلا از عفونت های ادراری و مطالعه فراوانی ژن LuxS در آن ها

تابان هاشمی[۱]، نورخدا صادقی فرد[۲]، جعفر همت*[۳]

۱) گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات خراسان رضوی نیشابور، نیشابور، ایران

۲) مرکز تحقیقات میکروب شناسی بالینی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام، ایلام، ایران

۳) پژوهشکده بیوتکنولوژی، سازمان پژوهش های علمی و صنعتی ایران، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۹۳/۶/۳۰ **تاریخ پذیرش: ۹۴/۱/۳۰**

چکیده

مقدمه: کروم سنسینگ[Quorum sensing (QS)] یک سیستم ارتباط سلول با سلول است که در پاسخ به تراکم جمعیت سلولی به واسطه تولید مولکول های کوچک خود القاگر(AI) فعال می گردد و در تنظیم بسیاری از اعمال فیزیولوژیکی باکتری ها نقش دارد. بنا بر این، در این مطالعه گونه های جنس کلبسیلا از عفونت های ادراری جداسازی و فراوانی ژن luxS در آن ها به عنوان یکی از اجزاء سیستم QS بررسی شد.

مواد و روش ها: در مجموع تعداد ۸۰ جدایه کلبسیلا از کشت نمونه های ادرار بیماران مبتلا به عفونت ادراری جمع آوری شد. جدایه ها با استفاده از تست های بیوشیمیایی شناسایی شدند. بررسی حضور ژن luxS با استفاده از روش PCR انجام گرفت.

یافته های پژوهش: از میان ۸۰ نمونه مورد بررسی، ۳۷ مورد(۴۶/۲ درصد) کلبسیلا پنومونیه، ۱۶ مورد(۲۰ درصد) کلبسیلا اکسی توکا، ۱۶ مورد(۲۰ درصد) کلبسیلا موبیلیس، ۵ مورد(۶/۲ درصد) کلبسیلا رینواسکلروماتیس و ۶ مورد(۷/۵ درصد) کلبسیلا اوزونه شناسایی شد. نتایج PCR نشان داد که ژن luxS در تمام جدایه های مورد مطالعه وجود دارد(۱۰۰ درصد).

بحث و نتیجه گیری: یافته های ما نشان داد که ژن luxS دارای شیوع بالایی در بین گونه های کلبسیلا است. از آن جا که نقش این ژن در تنظیم فعالیت های فیزیولوژیک باکتری ها از جمله تشکیل بیوفیلم برخی باکتری ها اثبات شده، مطالعات بیشتر ارتباط بیان این ژن و قدرت تشکیل بیوفیلم جدایه های کلبسیلا را مطرح می سازد.

واژه های کلیدی: کلبسیلا، سیستم کروم سنسینگ، ژن luxS

*نویسنده مسئول: پژوهشکده بیوتکنولوژی، سازمان پژوهش های علمی و صنعتی ایران، تهران

Email: j.hemmat @gmail.com

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-03-12]

مقدمه

مطالعه در سیستم کروم سنسینگ باکتریایی با بررسی بروز وابسته به تراکمی بیولومینسنس (Bioluminescence) در باکتری هم زیست دریایی ویبریو فیشری و باکتری آزادزی ویبریو هاروه ای مرتبط با آن آغاز گردید(۱). سیستم کروم سنسینگ((Quorum sensing (QS) در واقع یک مکانیسم سیگنالی سلول به سلول است که به وسیله آن تک تک باکتری های موجود در یک جمعیت به سیگنال خارج سلولی که توسط خود باکتری ها تولید می شود پاسخ می دهند(۲). تاکنون سه نوع از این مولکول های پیام رسان شناسایی شده اند که شامل اولیگوپپتیدها(Oligopeptides)، ان-استیل هموسرین لاکتون ها(N-acylhomoserine lactones) و مولکول های AI-2(autoinducer-2) ساخته شده به وسیله ژن luxS می باشند. مولکول های اولیگوپپتید و ان-استیل هموسرین لاکتون به ترتیب در باکتری های گرم مثبت و منفی حضور دارند، ولی مولکول های AI-2 هم در باکتری های گرم مثبت و هم گرم منفی حضور دارند(۳). سیستم کروم سنسینگ در تنظیم بیان برخی از ژن های دخیل در بیماری زایی، مقاومت آنتی بیوتیکی، تحرک، تشکیل بیوفیلم، تولید آنتی بیوتیک، بیولومینسنس، رقابت(Competence) و غیره نقش دارد(۶-۴). luxS از اجزای سیستم های QS شناخته شده در برخی باکتری های گرم مثبت و گرم منفی می باشد(۷). با توجه به اهمیت QS در تنظیم اعمال فیزیولوژیکی باکتری ها از جمله قدرت تشکیل بیوفیلم، آگاهی از حضور ژن های مرتبط با آن از اهمیت زیادی برخوردار است. بنا بر این، در این مطالعه به بررسی فراوانی ژن luxS در جدایه های بالینی کلبسیلا جمع آوری شده از نمونه های ادرار بیماران مبتلا به عفونت مجرای ادراری [Urinary tract infection(UTI)] پرداخته شد.

مواد و روش ها

جدایه های باکتریایی و شرایط کشت: در مجموع تعداد ۸۰ گونه کلبسیلا از کشت های نمونه ادرار بیماران مبتلا به عفونت ادراری جمع آوری و در محیط های افتراقی انتروباکتریاسه ها از قبیل MacConkey agar، Eosin-methylene blue agar (EMB) و Bromo-thymol blue agar (BTB) و محیط های انتخابی جداسازی و خالص سازی شد. کلبسیلاها آدنیتول، اینوزیتول، مانیتول، سالیسین، سوربیتول، و اغلب لاکتوز و سوکروز را تخمیر می کنند. بیشتر سویه ها، از قندها گاز تولید می کنند و گاز تولیدی نیز از نظر تشخیص حائز اهمیت است. واکنش متیل رد در آن ها منفی و وگس-پروسکوئر نیز مثبت می باشد. تقریباً همه آن ها بر روی محیط سیمون سیترات و محیط Moller's KCN رشد می کنند، پیگمان تولید نکرده، از فنیل آلانین استفاده نمی کنند و به جز تعداد اندکی از آن ها، ژلاتین را به صورت ناقص ذوب می کنند(۸). بنا بر این، شناسایی گونه های کلبسیلا بر اساس ویژگی های ذکر شده انجام گردید. برای انجام بررسی های بعدی، گونه های شناسایی شده در محیط TSB حاوی ۲۰ درصد گلیسرول و در ۲۰- درجه سانتی گراد نگه داری شدند.

تکثیر ژن: تکثیر ژن luxS از طریق روش PCR و با استفاده از یک دستگاه ترموسایکلر اپندورف مخصوص PCR(Bio-RAD, USA) پس از استخراج DNA توسط روش جوشاندن(Boiling) انجام گرفت. توالی و سیکل PCR استفاده شده برای تکثیر ژن به صورت خلاصه در جدول شماره ۲ ذکر گردیده است(۹). واکنش در حجم ۲۵ میکرولیتر و در تعداد ۳۳ سیکل انجام گرفت. در پایان واکنش، ۸ میکرولیتر از هر محصول به دست آمده را به وسیله ژل آگارز یک درصد حاوی DNAsafe(شرکت سیناکلون، ایران) که توسط بافر 1x TAE تهیه شده بود با استفاده از دستگاه ژل داک(Gel DocTM XR+, USA) مورد بررسی قرار گرفت. سپس، باقی مانده های محصول PCR در صورت نیاز در دمای ۲۰- درجه سانی گراد نگه داری شدند(جدول شماره ۱).

یافته های پژوهش

نتایج شناسایی گونه های باکتریایی: از مجموع ۸۰ جدایه کلبسیلا شناسایی شده، ۳۷ مورد(۴۶/۲ درصد) کلبسیلا پنومونیه، ۱۶ مورد(۲۰ درصد) کلبسیلا

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-03-12]

اکسی توکا، ۱۶ مورد(۲۰ درصد) کلبسیلا موبیلیس، ۵ مورد(۶/۲ درصد) کلبسیلا رینواسکلروماتیس و ۶ مورد(۷/۵ درصد) کلبسیلا اوزونه بود(جدول شماره ۲). ارتباط معناداری بین شیوع گونه های مختلف و جنسیت بیماران مشاهده نگردید(P=0.110).

ارتباط بین سن بیماران با شیوع گونه های کلبسیلا: نمونه های مورد بررسی از بیماران در سنین مختلف جمع آوری گردید. متعاقباً، یک ارتباط معنی دار بین سن بیماران با شیوع گونه های کلبسیلا مشاهده گردید(P=0.042). به طوری که بیشترین شیوع آلودگی در بین نوزادان و بیماران مسن دیده شد(جدول شماره ۲ و نمودار شماره ۱).

ارتباط بین سن و جنس بیماران: ارتباط بین سن و جنس بیماران نیز بررسی گردید و یک رابطه معنادار مشاهده گردید(P=0.001). به طوری که، در بین بیماران جنس مونث، بیشترین شیوع باکتری مربوط به نوزادان دختر(۲۳/۸ درصد) و در بیماران جنس مذکر، بیشترین شیوع در بین افراد مسن(۲۲/۵ درصد) مشاهده گردید(جدول شماره ۳).

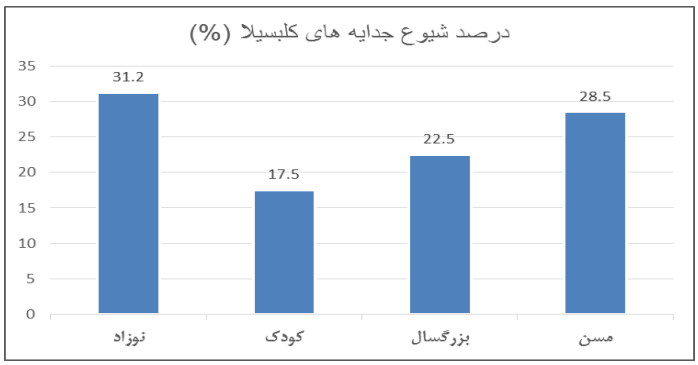
نتایج PCR: نتایج حاصل از واکنش PCR برای بررسی ژن luxS نشان دادکه این ژن در تمام جدایه ها مورد مطالعه وجود دارد(۱۰۰ درصد)(شکل شماره ۲).

جدول شماره ۱. شرایط سیکل PCR و توالی پرایمر مورد استفاده جهت تکثیر ژن luxS

توالی پرایمر	طول محصول (جفت باز)	سیکل PCR (درجه سانتی گراد)		
		Denaturation	Annealing	Extension
F: 5′-GCCGTTGTTAGATAGTTTCACAG-3′ R: 5′- CAGTTCGTCGTTGCTGTTGATG-3′	۴۷۷	۹۴	۶۸	۷۲

جدول شماره ۲. نتایج شیوع جدایه های مختلف کلبسیلا در بین بیماران

گونه کلبسیلا	محدوده سنی بیماران				مجموع
	نوزاد	کودک	بالغ	مسن	
کلبسیلا پنومونیه	۱۳ (٪۱۶/۲)	۷ (٪۸/۸)	۹ (٪۱۱/۲)	۸ (٪۱۰)	۳۷ (٪۴۶/۲)
کلبسیلا اکسی توکا	۶ (٪۷/۵)	۵ (٪۶/۲)	۲ (٪۲/۵)	۳ (٪۳/۸)	۱۶ (٪۲۰)
کلبسیلا اوزونه	۳ (٪۳/۸)	۰ (٪۰/۰)	۲ (٪۲/۵)	۱ (٪۱/۲)	۶ (٪۷/۵)
کلبسیلا موبلیس	۳ (٪۳/۸)	۱ (٪۱/۲)	۳ (٪۳/۸)	۹ (٪۱۱/۲)	۱۶ (٪۲۰)
کلبسیلا رینواسکلروماتیس	۰ (٪۰/۰)	۱ (٪۱/۲)	۲ (٪۲/۵)	۲ (٪۲/۵)	۵ (٪۶/۲)
مجموع	۲۵ (٪۳۱/۲)	۱۴ (٪۱۷/۵)	۱۸ (٪۲۲/۵)	۲۳ (٪۲۸/۸)	۸۰ (٪۱۰۰)
P=0.042					

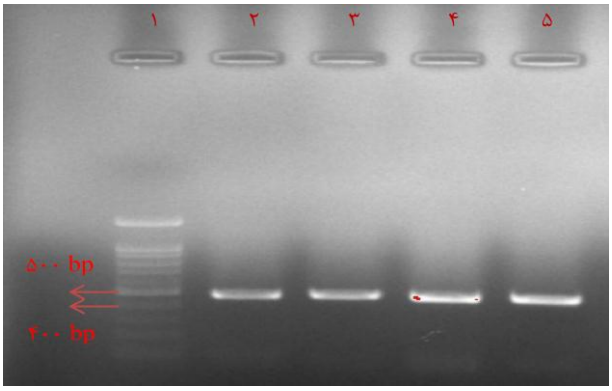


شکل شماره ۱. درصد شیوع جدایه های کلبسیلا بر اساس سن بیماران

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-03-12]

جدول شماره ۳. ارتباط بین سن و جنس بیماران آلوده به گونه های کلبسیلا

جنس بیماران	محدوده سنی بیماران				مجموع
	نوزاد	کودک	بالغ	مسن	
مرد	۶ (٪۷/۵)	۷ (٪۸/۸)	۸ (٪۱۰)	۱۸ (٪۲۲/۵)	۳۹ (٪۴۸/۸)
زن	۱۹ (٪۲۳/۸)	۷ (٪۸/۸)	۱۰ (٪۱۲/۵)	۵ (٪۶/۲)	۴۱ (٪۵۱/۲)
مجموع	۲۵ (٪۳۱/۲)	۱۴ (٪۱۷/۵)	۱۸ (٪۲۲/۵)	۲۳ (٪۲۸/۸)	۸۰ (٪۱۰۰)
P=0.001					



شکل شماره ۲. الکتروفورز محصولات PCR ژن luxS بر روی ژل آگارز یک درصد
۱: مارکر: ۱۰۰ جفت باز؛ ۵-۲: ژن luxS: ٤٧٧ جفت باز

بحث و نتیجه گیری

گونه های کلبسیلا انتشار وسیعی داشته و توانایی رشد در شرایط نامساعد محیطی را نیز دارند. این گونه ها بیماری زاهای فرصت طلبی هستند که علاوه بر عفونت های ادراری، عامل عفونت های بیمارستانی از قبیل پنومونی، باکتریمی، سپسیس و عفونت های زخم و بافت نرم می باشند(۲۶-۲۴). در این جنس کلبسیلا پنومونیه مهم ترین گونه بیماری زا است که عامل ایجادکننده عفونت های مجرای ادراری و داخل شکمی و نیز پنومونی در بیماران بستری با اختلال در سیستم ایمنی می باشد و بعد از اشریشیاکلی در ایجاد عفونت های خونی در جایگاه دوم قرار دارد(۲۶). بر اساس نتایج تحقیق گونه پنومونیه بیشترین عامل عفونت ادرای در بین جمعیت مورد تحقیق بوده است و هر دو جنس مرد و زن از میزان شیوع تقریباً برابر برخوردار بوده اند. بنا بر این پراکنش آلودگی وابسته به جنس نبوده است. اما در هر دو جنس وابستگی به سن محرز و در بین مردان، افراد مسن و در بین زنان، نوزادان بیشترین شیوع را نشان دادند. در مطالعه حاضر، بیشترین شیوع کلبسیلا مربوط به کلبسیلا پنومونیه(۴۶/۲ درصد) و کمترین شیوع در ارتباط با کلبسیلا رینواسکلروماتیس(۶/۲ درصد) بود. که متفاوت از برخی مطالعات؛ از جمله Leblebicioglu و همکاران با نسبت ۱۶ درصد و ۳ درصد است(۲۸،۳۵).

در این مطالعه، بین سن بیماران و شیوع باکتری ها ارتباط معناداری مشاهده گردید(P=0.049). به طوری که شیوع کلبسیلا در نوزادان بیشتر از سایر رده های سنی(۳۱/۲ درصد) بود. در این رده سنی کلبسیلا عامل عفونت هایی از قبیل سپسیس، UTIs، پنومونی و عفونت های بافت نرم است. نوزادان به دلیل این که معمولاً بدون فلور میکروبی دستگاه گوارش متولد می شوند، کلونیزاسیون گونه های کلبسیلا سریع تر از فلور میکروبی رخ می دهد که این امر عامل افزایش شیوع باکتری در آن ها می باشد. از دیگر عواملی که زمینه ساز بروز عفونت در این رده سنی است شامل انسداد مادرزادی، اختلال عملکرد دریچه حالب، فیموز یا تنگی

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-03-12]

غلاف، نارسایی سیستم دفاعی و ورود ارگانیسم های بیماری زای مدفوعی به دستگاه دستگاه ادراری است(۲۹). افراد مسن بعد از نوزادان بیشترین جمعت آلوده را تشکیل دادند(۲۸/۸ درصد). در این بیماران، شیوع بیماری بیشتر به دلیل اروپاتی انسدادی ایجاد شده، به دلیل هیپرتروفی پروستات و نیز کاهش اثرات باکتری کشی ترشحات پروستات به دلیل افزایش سن رخ می دهد(۳۳).

هم چنین، در بررسی ارتباط سن و جنس بیماران، یک رابطه معنا دار مشاهده گردید(P=0.001). به طوری که، در بین بیماران جنس مونث، بیشترین شیوع باکتری در بین نوزادان دختر(۲۳/۸ درصد) و در بیماران جنس مذکر، بیشترین شیوع در بین افراد مسن(۲۲/۵ درصد) مشاهده گردید. افراد مسن بعد از نوزادان بیشترین جمعت آلوده را تشکیل دادند(۲۸/۸ درصد). در این بیماران، شیوع بیماری بیشتر به دلیل اروپاتی انسدادی ایجاد شده به دلیل هیپرتروفی پروستات و نیز کاهش اثرات باکتری کشی ترشحات پروستات به دلیل افزایش سن رخ می دهد(۳۳).

با توجه به اهمیت نقش سیستم luxS در باکتری ها به بررسی فراوانی آن در این گونه ها پرداخته شد. در این بررسی، ژن luxS در تمامی جدایه های مورد مطالعه حضور داشت(۱۰۰ درصد) و هیچ گونه وابستگی به سن یا جنس افراد بیمار نشان نداد. luxS از سیستم های شناخته شده QS است که در متابولیسم متیونین و AI-2 دخیل است و فعال کننده methyl cycle جهت کاتالیز(SRH) S-ribosylhomocysteine به هموسیستئین می باشد(۱۲-۹). luxS هم چنین دارای نقش حیاتی در برخی از اعمال فیزیولوژیک باکتری ها از قبیل تشکیل بیوفیلم، بیان ژن، حرکت و مقاومت آنتی بیوتیکی می باشد(۱۳). در مطالعات صورت گرفته luxS در تشکیل بیوفیلم چندین باکتری از قبیل اشریشیاکلی، استرپتوکوکوس موتانس، استافیلوکوکوس اورئوس، ایکنلا کوروودنس و استرپتوکوکوس گوردنه نقش داشته است(۲۰-۱۵). در بررسی انجام گرفته توسط Xue و همکاران(۲۰۱۳) ارتباط این سیستم با مقاومت آنتی بیوتیک در سویه های استافیلوکوکوس اورئوس شناسایی گردید(۲۱). در گونه های باسیلوس آنتراسیس، ارتباط این سیستم با تنظیم رشد، بیان ژنی وابسته به تراکم و نیز بیان فاکتورهای بیماری زایی مشخص شده است(۲۲). برخلاف این نتایج، در مطالعه ای که توسط Schneide و همکاران(۲۰۰۲) بر روی موتانت های luxS پروتئوس میرابلیس انجام گرفته هیچ تغییری در رشد، تولید آنزیم های اوره آز، پروتئاز و همولیزین، حرکت سوآرمینگ و نیز تشکیل بیوفیلم نسبت به سویه های وحشی مشاهده نگردیده است(۲۳). این در حالی است که در مطالعاتی که بر روی اثر مهاری کنندگی فورانون در کروم سنسینگ بر روی پروتئوس میرابلیس انجام گرفته است مشخص شده که باعث مهار تولید مولکول های AI-2 و نیز کاهش حرکت سوارمینگ و نیز افزایش جدا شدن باکتری ها از ساختار بیوفیلم شده است(۳).

با توجه به اهمیت نقش سیستم luxS در باکتری ها به بررسی فراوانی آن در این گونه ها پرداخته شد. در این بررسی، ژن luxS در تمامی جدایه های مورد مطالعه حضور داشت(۱۰۰ درصد). در سازگاری با این نتایج، در مطالعه ای که توسط Wang و همکاران بر روی ارگانیسم های استرپتوکوکوس سوئیس انجام گرفت، این ژن نیز در تمام سویه های مورد مطالعه شناسایی گردید(۱۰۰ درصد)(۱۴). در مطالعه Wojnicz و همکاران(۲۰۱۲) نیز این ژن در تمام سویه های اشریشیاکلی مورد مطالعه وجود داشت(۳۰). گر چه Balestrino سیستم نوع دوم QS و ارتباط آن را با تشکیل بیوفیلم در کلبسیلا پنومونیه بررسی کردند(۹،۲۹). اما Goncalves و همکاران(۲۰۱۴) نقش کپسول پلی ساکارید کلبسیلا را در ممانعت از تشکیل بیوفیلم چند باکتری گرم مثبت و منفی دیگر نشان دادند(۳۱). این نتایج بیان کننده فراوانی بالای این ژن در گونه های باکتریایی را دارد. به طوری که سیستم مذکور در بیش از ۸۰ گونه باکتریایی شناخته شده است و مهارکننده های این سیستم نیز می توانند دارای اثرات وسیع ضد سیستم QS باشند(۱۶). نکته قابل ذکر این است که اگر چه تمام مولکول های LuxS موجب سنتز عوامل AI-2 می شوند، ولی این عوامل در سویه

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-03-12]

های مختلف باکتری ها دارای تفاوت هایی نیز می باشند. با این وجود، استفاده از یک ترکیب مهارکننده احتمالاً می تواند باعث مهار مولکول های LuxS شود. در این راستا، تلاش هایی برای مهار این سیستم ها(به واسطه تولید مولکول های آنالوگ و یا دارو های مختل کننده اجزای سیستم) صورت گرفته است و در برخی موارد نیز باعث کاهش تشکیل بیوفیلم و نیز مهار سیستم های ترشحی، آدهسین ها و ترشح فاکتورهای توکسیک در باکتری ها شده است که این امر با توجه به افزایش مقاومت آنتی بیوتیکی در میان باکتری ها می تواند نوید بخش شناسایی اهداف جدید برای تولید داروهای ضد میکروبی جهت درمان عفونت ها باشد(۱۵). در پایان، سیستم luxS از جمله سیستم های کروم سنسینگ است که هم در باکتری های گرم مثبت و هم گرم منفی وجود دارد. یافته های ما نشان داد که ژن luxS دارای شیوع بالایی در بین گونه های کلبسیلا است. این ژن در ارتباط با تنظیم بسیاری از اعمال فیزیولوژیک باکتری ها است، از آن جایی که نقش این ژن در تنظیم فعالیت های فیزیولوژیک باکتری ها اثبات شده، مطالعات بیشتر ارتباط بیان این ژن و بیان فاکتورهای ویرولانس باکتری کلبسیلا را نشان خواهد داد.

سپاسگزاری

بدین وسیله از زحمات تمام کسانی که در انجام این مطالعه ما را یاری فرمودند کمال تشکر و قدردانی را داریم.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-03-12]

References

1.Zavilgelskii GB, Manukhov IV. Quorum sensing or how bacteria talk to each other. Curr Opin Microbiol 2001;35:268-77.

2.Rutherford ST, Bassler BL. Bacterial quorum sensing: its role in virulence and possibilities for its control. Cold Spring Harb Perspect Med 2012; 2: 124-7.

3.Xiong Y, Liu Y. Biological control of microbial attachment: a promising alternative for mitigating membrane biofouling. Appl Microbiol Biotechnol2010;86:825-37.

4.Xavier KB, Bassler BL. LuxS quorum sensing: more than just a numbers game. Curr Opin Microbiol2003;6:191-7.

5.Hong SH, Hegde M, Kim J, Wang X, Jayaraman A, Wood TK. Synthetic quorum sensing circuit to control consortial biofilm formationand dispersal in a microfluidic device. Nat Commun. 2012;3:613.

6.Smalley NE, An D, Parsek MR, Chandler JR, Dandekar AA. Quorum sensing protects Pseudomonas aeruginosa against cheating by other species in a laboratory coculture model. J Bacteriol 2015;197:3154-9.

7.Haslan E, Kimiranerdem A. Investigation of N-acyl homoserine lactone (AHL) molecule production in Gram-negative bacteria isolated from cooling tower water and biofilm samples. Folia Microbiol 2013;58:349-60.

8.Saikia P, Joshi SR. Retail market poultry meats of North-East India-a microbiological survey for pathogenic contaminants. Res J Microbiol 2010;5:36-43.

9.Balestrino D, Haagensen JA, Rich C, Forestier C. Characterization of type 2 quorum sensing in Klebsiella pneumoniae and relationship with biofilm formation. J Bacteriol 2005;187:2870-80.

10.Li L, Xu Z, Zhou Y, Li T, Sun L, Chen H, et al. Analysis on Actinobacillus pleuropneumoniae luxs regulated genes reveals pleiotropic roles of LuxS/AI-2 on biofilm formation, adhesion ability and iron metabolism. Microb Pathog2011;50:293-302.

11.Blehert DS, Palmer RJ, Xavier JB, Almeida JS, Kolenbrander PE. Autoinducer 2 production by Streptococcus gordonii DL1 and the biofilm phenotype of a luxs mutant are influenced by nutritional conditions. J Bacteriol 2003;185:4851-60.

12.Hardie KR, Heurlier K. Establishing bacterial communities byword of mouth: luxs and autoinducer 2 in biofilm development. Nat Rev Microbiol2008;6:635-43.

13.Lombardia E, Rovetto AJ, Arabolaza AL, Grau RR. A luxs-dependent cell-to-cell language regulates social behavior and development in Bacillus subtilis. J Bacteriol 2006;188:4442-52.

14.Wang Y, Zhang W, Wu Z, Zhu X, Lu C. Functional analysis of luxs in Streptococcus suis reveals a key role in biofilm formation and virulence. Vet Microbiol 2011; 52: 151-60.

15.Karim MM, Hisamoto T, Matsunaga T, Asahi Y, Noiri Y, Ebisu S, et al. Luxs affects biofilm maturation and detachment of the periodontopathogenic bacterium Eikenella corrodens. J Bacteriol2013;116:313-8.

16.Sintim HO, Smith JA, Wang J, Nakayama S, Yan L. Paradigm shift in discovering next-generation anti-infective agents: targeting quorum sensing, c-di-GMP signaling and biofilm formation in bacteria with small molecules. Future Med Chem2010; 35:1005-35.

17.Barrios AFG, Zuo R, Hashimoto Y, Yang L, Bentley WE, Wood TK. Autoinducer 2 controls biofilm formation in Escherichia coli through a novel motility quorum-sensing regulator (MqsR, B3022). J Bacteriol2006;188:305-16.

18.Merritt J, Qi F, Goodman SD, Anderson MH, Shi W. Mutation of luxs affects biofilm formation in Streptococcus mutans. Infect Immun2003;71:1972-9.

19.Mcnab R, Ford SK, El-Sabaeny A, Barbieri B, Cook GS, Lamont RJ. LuxS-based signalingin Streptococcus gordonii: autoinducer 2 controls carbohydrate metabolism and biofilm formation with Porphyromonas gingivalis. J Bacteriol 2003;185:274-84.

20.Kong KF, Vuong C, Otto M. Staphylococcus quorum sensing in biofilm formation and infection. IJMM. 2006;296:133-9.

21.Xue T, Zhao L, Sun B. Luxs/AI-2 system is involved in antibiotic susceptibility and autolysis in

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-03-12]

Staphylococcus aureus NCTC 8325. Int J Antimicrob 2013;41:85-9.
22.Jones MB, Peterson SN, Benn R, Braisted JC, Jarrahi B, Shatzkes K, et al. Role of luxs in Bacillus anthracis growth and virulence factor expression. Virulence2010;1:72-83.
23.Stankowska D, Czerwonka G, Rozalska S, Grosicka M, Dziadek J, Kaca W. Influence of quorum sensing signal molecules on biofilm formation in Proteus mirabilis O18. Folia Microbiol2012;57:53-60.
24.Podschun R, Ullmann U. Klebsiella spp. as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy typing methods, and pathogenicity factors. Clin Microbiol Rev 1998;11:589-603.
25.Patwardhan R, Dhakephalkar P, Niphadkar K, Chopade B. A study on nosocomial pathogens in ICU with special reference to multiresistant Acinetobacter baumannii harbouring multiple plasmids. Indian J Med2008;128: 78.
26.Levy I, Ovadia B, Erez E, Rinat S, Ashkenazi S, Birk E, et al. Nosocomial infections after cardiac surgery in infants and children: incidence and risk factors. J Hosp Infect. 2003;53:111-6.
27.Tumbarello M, Spanu T, Sanguinetti M, Citton R, Montuori E, Leone F, et al. Bloodstream infections caused by extended-spectrum-β-lactamase-producing Klebsiella pneumoniae: risk factors, molecular epidemiology and clinical outcome. Antimicrob Agents Chemother 2006;50:498-504.
28.Kalantar E, Motlagh ME, Lornejad H, Reshadmanesh N. Prevalence of urinary tract pathogens and antimicrobial susceptibility patterns in children at hospitals in Iran. Iran J Clinic Infect Dis 2008;3: 149-53.
29.Kanellopoulos TA, Salakos C, Spiliopoulou I, Ellina A, Nikolakopoulou NM, Papanastasiou DA. First urinary tract infection in neonates, infants and young children: a comparative study. Pediatr Nephrol2006; 21: 1131-7.
30. Wojnicz D, Kucharska AZ, Sokol A, Kicia M, Tichaczekgoska D. Medicinal plants extracts affect virulence factors expression and biofilm formation by the uropathogenic Escherichia coli. Urol Res. 2012;40:683-97.
31.Goncalves Mdos S, Delattre C, Balestrino D, Charbonnel N, Elboutachfaiti R, Wadouachi A et al. Anti-Biofilm activity: a function of Klebsiella pneumoniae Capsular Polysaccharide. PLos One 2014;9: 995-95.
32.Zhu H, Liu HJ, Ning SJ, Gao YL. The response of type 2 quorum sensing in Klebsiella pneumoniae to a fluctuating culture environment. DNA Cell Biol 2012; 31:455-9.
33.Rosen R, Altwein J, Boyle P, Kirby RS, Lukacs B, Meuleman E, et al. Lower urinary tract symptoms and male sexual dysfunction: the multinational survey of the aging male (MSAM-7). Prog Urol 2004;14:332-44.
34.Tasbakan M T, Durusoy R, Pullukcu H, Sipahi O R, Ulusoy S. Hospital-acquired urinary tract infection point prevalence in Turkey: differences in risk factors among patient groups. Ann Clin Microbiol Antimicrob 2013;12: 31.
35.Leblebicioglu H, Esen S. Hospital-acquired urinary tract infections in Turkey: a nationwide multicenter point prevalence study. J Hosp Infect 2003;53:207-10.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-03-12]

Isolation of Klebsiella Species form Urinary Tract Infections and Study of Frequency of those LuxS Gene

Hashemi T[1], Sadeghifard N[2], Hemmat J[3]*

(Received: September 21, 2014 Accepted: April 19, 2015)

Abstract

Introduction: Quorum sensing (QS) system is a complex cellular regulatory network activated in response to population size via auto inducer molecules (AI). luxS gene is an important recognized in QS some Gram-negative and Gram-positive bacteria which produce AI-2 molecules. Therefore, klebsiella isolated form urinary tract infections and the frequency of luxS gene in the isolates was studied.

Materials & methods: A total of 80 clinical isolates of Klebsiella spp. were collected from urinary tract infection (UTI). The isolates were identified by biochemical tests. The specific luxS amplicon were identified by PCR.

Findings: The results revealed 37 (46.2%), 16 (20.0%), 5 (6.2%), 6 (7.5%), and 16 (20%) of the isolates were K. pneumonia, K. oxytoca, K. rhinoscleromatis, K. ozaenaand K. mobile, respectively. According to the PCR analysis, all the isolates present the luxS gene.

Discussion & Conclusions: Our findings revealed luxS gene has high prevalence in Klebsiella spp. This system is associated with regulation of many physiological functions of bacteria such as biofilm formation; therefore its expression level can be surveyed in correlation with the biofilm formation ability of the isolates in next study.

Keywords: Klebsiella, LuxS gene, Quorum sensing system

1. Dept of Biology, Faculty of Sciences, Islamic Azad University, Neyshabur Branch, Neyshabour, Iran
2. Clinical Microbiology Research Center, Ilam University of Medical Sciences, Ilam, IR Iran
3. Dept of Biotechnology, Iranian Research Organization for Science and Technology-IROST, Tehran, Iran
**Correspondin author Email: j.hemmat @gmail.com*

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-03-12]