

O receptor de aerobactina IutA, uma proteína isolada em coluna de agarose, não é essencial para a infecção por *Escherichia coli* uropatogênica¹

Taise Natali Landgraf²

Alan Berlese³

Fabricio Freitas Fernandes⁴

Mariani Lima Milanezi⁵

Roberto Martinez⁶

Ademilson Panunto-Castelo⁷

Apenas alguns relatos na literatura demonstram que lectinas são importantes nos processos de colonização e infecção por *Escherichia coli*. A falta de compreensão clara dos mecanismos envolvendo lectinas, no processo de colonização por *E. coli*, motivou a realização deste estudo para se identificar a presença de outras lectinas não descritas em *E. coli*. Neste trabalho, isolou-se uma proteína de 75kDa de *E. coli* em coluna de Sepharose, correspondente ao receptor de aerobactina férrica (IutA). A associação de IutA com virulência de cepas de *E. coli* é controversa, principalmente em *E. coli* uropatogênica (UPEC), o que levou a se avaliar a presença do gene *iutA* em UPECs isoladas de pacientes com infecção urinária. O gene estava presente em 38% dos isolados, sugerindo fraca associação com virulência. Devido à existência de redundância nos sistemas de captura de ferro, sugere-se, aqui, que IutA possa ser vantajosa, mas não essencial para UPEC.

Descritores: *Escherichia coli* Uropatogênica; Sideróforos; Lectina; Virulência.

¹ Apoio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), processo nº 06/04482-6.

² Mestrandos, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Brasil. Bolsista de Iniciação Científica, FAPESP.

³ Mestrandos, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Brasil. Bolsista de Mestrado, FAPESP.

⁴ Doutorando, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Brasil.

⁵ Mestrandos, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Brasil. Bolsista de Treinamento Técnico, FAPESP.

⁶ Doutor, Professor Associado, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Brasil.

⁷ Doutor, Professor Doutor, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Brasil.

Endereço para correspondência:

Ademilson Panunto Castelo

Universidade de São Paulo. Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto

Departamento de Biologia

Av. Bandeirantes, 3900

Bairro: Monte Alegre

CEP: 14040-901, Ribeirão Preto, SP, Brasil

E-mail: apcastelo@usp.br

The ferric aerobactin receptor IutA, a protein isolated on agarose column, is not essential for uropathogenic *Escherichia coli* infection

Although many proteins have been described involved in *E. coli* colonization and infection, only few reports have shown lectins as important components in these processes. Because the mechanisms underlying *E. coli* colonization process involving lectins are not fully understood, we sought to identify the presence of other non-described lectins in *E. coli*. Here, we isolated a 75-kDa protein from *E. coli* on Sepharose column and identified it as ferric aerobactin receptor (IutA). Since IutA is controversially associated with virulence of some *E. coli* strains, mainly in uropathogenic *E. coli* (UPEC), we evaluated the presence of *iutA* gene in UPEC isolated from patients with urinary infection. This gene was present in only 38% of the isolates, suggesting a weak association with virulence. Because there is a redundancy in the siderophore-mediated uptake systems, we suggest that IutA can be advantageous but not essential for UPEC.

Descriptors: Uropathogenic *Escherichia coli*; Siderophores; Lectin; Virulence.

El receptor de aerobactina IutA, una proteína aislada en columna de agarosa, no es esencial para la infección por *Escherichia coli* uropatógena

La falta de una clara comprensión de los mecanismos de participación de las lectinas en el proceso de colonización por *E. coli*, nos motivó a identificar la presencia de otras lectinas que no han sido descritas en *E. coli*. En este estudio, se aisló una proteína de 75kDa de *E. coli* en una columna de Sepharosa, correspondiente al receptor de aerobactina (IutA). La asociación de IutA con cepas virulentas de *E. coli* es controvertido, especialmente en *E. coli* uropatógena (UPEC), lo que nos llevó a evaluar la presencia del gen *iutA* en UPECs aisladas de pacientes con infección urinaria. El gen estaba presente en 38% de los aislamientos, lo que sugiere una débil asociación con la virulencia. Debido a la existencia de redundancia en los sistemas de captura de hierro, se sugiere que IutA puede ser una ventaja, sin embargo no es esencial para la UPEC.

Descriptores: *Escherichia coli* Uropatógena; Sideróforos; Lectina; Virulencia.

Introdução

A microbiota intestinal de mamíferos inclui várias espécies bacterianas⁽¹⁾ que, normalmente, estabelecem relação de mutualismo com o hospedeiro. O primeiro passo no processo de colonização de um hospedeiro é uma ligação entre o agente colonizador e o epitélio do organismo colonizado⁽²⁾. Em bactérias gram-negativas, grande variedade de moléculas ou estruturas podem funcionar como adesinas que promovem melhor adesão ao receptor da célula epitelial⁽³⁾.

E. coli é o mais abundante de todos os micro-organismos que colonizam o intestino de muitos animais. Exceto em hospedeiros imunocomprometidos, ou quando as barreiras gastrointestinais são rompidas, essas bactérias raramente causam doença. O papel

das adesinas e lectinas na simbiose de *E. coli* com o hospedeiro não é bem conhecido, o que contrasta com *E. coli* patogênicas que têm algumas fímbrias associadas à virulência. Após o trabalho pioneiro⁽⁴⁾, que obteve a primeira evidência de que *E. coli* continha lectina, alguns autores demonstraram que proteínas com propriedade lectínica, tais como as fímbrias tipo 1 e P, eram fatores de virulência determinantes para o processo de colonização e infecção, especialmente no epitélio da bexiga. A fímbria do tipo 1 é um dos fatores de virulência de *E. coli* mais estudados, estando presente em 80% das cepas de UPECs⁽⁵⁾. Além das fímbrias tipo 1 e P, foi descrito que a fímbria F17 é importante para a patogênese de *E. coli* enterotoxigênica em ruminantes⁽⁶⁾.

Uma vez que lectinas têm sido descritas como importantes componentes no processo de colonização e infecção por bactérias e que alguns dos mecanismos subjacentes à virulência de *E. coli* não são completamente compreendidos, procurou-se, aqui, identificar outras lectinas não descritas como marcadores moleculares.

Marcadores moleculares de patógenos têm sido úteis para acelerar o diagnóstico, a prevenção e o tratamento de muitas doenças infecciosas. Em infecções do trato urinário (ITU), estudos que usam métodos moleculares mostraram-se essenciais para a compreensão da epidemiologia dessas infecções, uma vez que as taxas de ITUs são muito altas e grande número de organismos diferentes podem ser os agentes etiológicos dessas infecções. Ademais, cepas de *E. coli* são a causa mais comum de ITUs⁽⁷⁾, compreendendo grupo extremamente heterogêneo⁽⁸⁾. ITU é um problema de saúde pública que necessita de tratamento efetivo para a prevenção⁽⁹⁾. Assim, a compreensão dos princípios que guiam estudos sobre marcadores moleculares é essencial para enfermeiros de todas as áreas da prática clínica, já que esses profissionais são responsáveis pelo planejamento, avaliação e implementação de estratégias que levam à assistência mais efetiva para os pacientes e a comunidade.

Neste trabalho, identificou-se uma proteína ligante de agarose de 75kDa de *E. coli* como candidata a uma nova proteína com atividade lectínica e com papel putativo na virulência de *E. coli*. Essa proteína foi identificada como precursora do receptor da aerobactina férrica (IutA), um receptor de sideróforo, codificado por um gene do plasmídeo pColV-30⁽¹⁰⁾, associado com virulência de algumas cepas de *E. coli*⁽¹¹⁾. Avaliou-se, também, neste estudo, a presença do gene *iutA* em cepas de UPEC para correlação com a infecção bacteriana.

Métodos

Isolamento de proteína ligante de carboidrato de *E. coli*

Isolados de UPEC (gentilmente cedidos pelo Dr. Ebert Hanna, Invent Biotecnologia Ltda, Ribeirão Preto, SP, Brasil) foram cultivados em meio Eagle, modificado por Dulbecco (DMEM)⁽¹²⁾, a 37°C, sob agitação constante a 200rpm, por toda a noite. Para avaliar a influência de íons na produção de proteínas bacterianas, DMEM foi suplementado com 22mM de KH₂PO₄, 10mM de CaCl₂, 0,25mM de Fe(NO₃)₃ ou 22mM de KH₂PO₄ mais 0,25mM de Fe(NO₃)₃⁽¹²⁾. As células foram recuperadas por centrifugação (10.000 × g, por 15 minutos, a 4°C), ressuspendidas em 25mL de TBS-azida (solução salina tamponada com Tris-HCl a 50mM contendo

10mM de CaCl₂, 2% (v/v) de Triton X-100 e 0,02% (m/v) de azida sódica, 100mM de MOPS, pH 7,4) e sonicadas em banho de gelo com 5 pulsos de 30 segundos cada, a 60Hz (Vibra-cell, Sonics & Materials Inc., Danbury, EUA). Os lisados bacterianos foram centrifugados a 10.000 × g, por 15 minutos, a 4°C. Os sobrenadantes foram submetidos a dois processos: a. incubação seriada com Sepharose CL-4B e resinas imobilizadas com carboidratos (D-galactose, D-manose, D-GlcNAc ou lactose), por 1 hora, à temperatura ambiente. Após a lavagem das resinas com TBS para remoção do material não adsorvido, essas foram submetidas à SDS-PAGE; b. cromatografia de afinidade em coluna de Sepharose CL-4B, com volume de leito de 1mL, em sistema automatizado *AKTA Purifier* (GE Healthcare Life Sciences, Uppsala, Suécia). O material adsorvido à coluna foi eluído com 1M de NaCl ou 0,1% (v/v) de ácido acético em água. A cromatografia foi monitorada por absorbância a 280nm e as frações eluídas foram coletadas em *pools*, concentrados e dialisados contra TBS, utilizando-se Amicon Ultra-15 (membrana de exclusão com tamanho de 10kDa) (Millipore, Billerica, EUA), de acordo com instruções do fabricante. As proteínas dos eluatos concentrados foram separadas em gel de poliacrilamida a 10%, em condições dissociantes (SDS-PAGE). Os géis foram corados com azul de Coomassie.

Identificação de proteínas

As proteínas coradas com azul de Coomassie foram recortadas e tripsinizadas no gel, anteriormente à análise por 1D nLC-MS-MS, usando o sistema de espectrometria de massa (MS) *4000 QTrap* (Applied Biosystems) *tandem MS system* (Fingerprints Proteomics Facility, Universidade de Dundee). Os resultados foram analisados usando o programa Mascot (www.matrixscience.com).

Reação em cadeia da polimerase (PCR) do gene *iutA* em cepas de UPEC

Cepas de UPEC, isoladas da urina de pacientes hospitalizados, foram coletadas na Unidade de Emergência do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, no período de julho a setembro de 2009. Essas cepas foram submetidas a PCR para detecção do gene *iutA*. O plasmídeo pPOC9-*iutA*, gentilmente cedido pelo Dr. Michael O'Connell, Dublin City University, Irlanda⁽¹³⁾, foi utilizado como controle positivo. Os ensaios de PCR foram realizados com 20µL de uma mistura contendo 1 colônia de cada cepa testada, 1,25µM de cada par de iniciadores 5'-AAATTCATATGATGATAAGCAAAAAG-3' e 5'-TTCAAGCTTTCAGAACAGCA

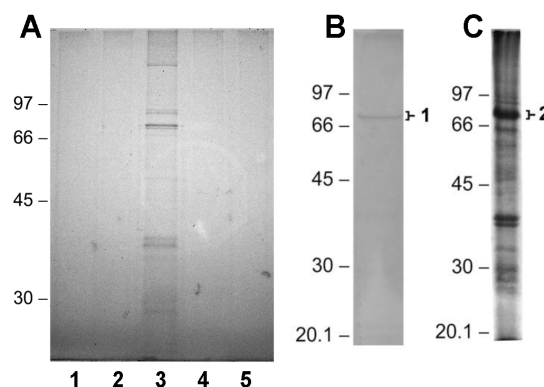
CAGAGTAG-3', 0,2mM de cada desoxinucleosídeo trifosfato, tampão de PCR concentrado 10X, 1,5mM de $MgCl_2$, 2U da enzima Taq DNA polimerase (Fermentas, Burlington, Canadá). A PCR foi realizada em um aparelho *Eppendorf Master Cycler Gradient Thermocycler* (Eppendorf Scientific, Inc., Westbury, EUA), nas seguintes condições: 94°C por 5 minutos, 30 ciclos de 94°C por 1 minuto, 51°C por 1 minuto e 72°C por 2,5 minutos e, no final desses 30 ciclos, 72°C por 5 minutos. As reações foram mantidas a 4°C até o uso. Os produtos da PCR (*amplicons*) foram analisados em gel de agarose a 1%, após marcação com brometo de etídeo, sendo os *amplicons* identificados com base nos tamanhos dos produtos amplificados.

Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética da Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, sob Protocolo nº0737/2006.

Resultados

E. coli apresenta uma proteína de 75kDa ligante de agarose

Para identificar proteínas ligantes de carboidratos que poderiam ser específicas para a colonização, inicialmente, cultivou-se *E. coli* em meio mínimo (DMEM), que mimetiza as condições do trato intestinal⁽¹²⁾. Quando o sobrenadante do lisado de *E. coli* foi incubado seriadamente com Sepharose CL-4B e resinas imobilizadas com carboidrato, não foram detectadas proteínas adsorvidas a Sepharose (Figura 1A, raia 1), ou a qualquer uma das outras resinas (dados não mostrados). Tendo como base o trabalho de Kenny et al.⁽¹²⁾, que obtiveram aumento na produção de fatores de virulência de EPEC, quando suplementaram o meio mínimo com sais, cultivaram-se, aqui, bactérias em meio DMEM suplementados com 22mM de KH_2PO_4 , 10mM de $CaCl_2$, 0,25mM de $Fe(NO_3)_3$ ou 22mM de KH_2PO_4 mais 0,25 mM $Fe(NO_3)_3$. A indução de proteínas ligantes de Sepharose foi observada apenas em bactérias que foram cultivadas em meio DMEM suplementado com $CaCl_2$ (Figura 1A, raia 3). Na preparação, obteve-se uma proteína majoritária de 75kDa, seguida por proteínas secundárias com $MM > 97kDa$, $\sim 85kDa$ e um duplex de $\sim 40kDa$. O fato de a agarose ser um suporte para imobilizar carboidrato fez com que se incubasse o lisado primeiramente com Sepharose CL-4B, seguido das outras resinas. Como a proteína de 75-kDa ligou a Sepharose CL-4B, não foi possível detectar proteínas nas outras resinas.



(A) Lisado obtido de *E. coli*, que foi cultivada em meio mínimo (1) sem adição de suplementação adicional com sais ou suplementado com (2) KH_2PO_4 , (3) $CaCl_2$, (4) $Fe(NO_3)_3$, (5) KH_2PO_4 e $Fe(NO_3)_3$, foi incubado com Sepharose CL-4B. Após lavagem, as resinas contendo proteínas adsorvidas foram submetidas à SDS-PAGE. Lisado de *E. coli* cultivado em meio mínimo suplementado com $CaCl_2$ foi também submetido à cromatografia de afinidade em Sepharose. Material adsorvido foi eluído com (B) 1M de NaCl e (C) 0,1% de ácido acético, dialisado e submetido à SDS-PAGE. Os géis foram corados com azul de Coomassie. Posição de migração de marcadores com massa molecular conhecida estão indicadas na esquerda da figura, em kDa.

Figura 1 - Proteína de 75kDa de UPEC liga-se à Sepharose CL-4B de um modo dependente de Ca^{2+}

Proteína de 75kDa corresponde à *iutA* de *E. coli*

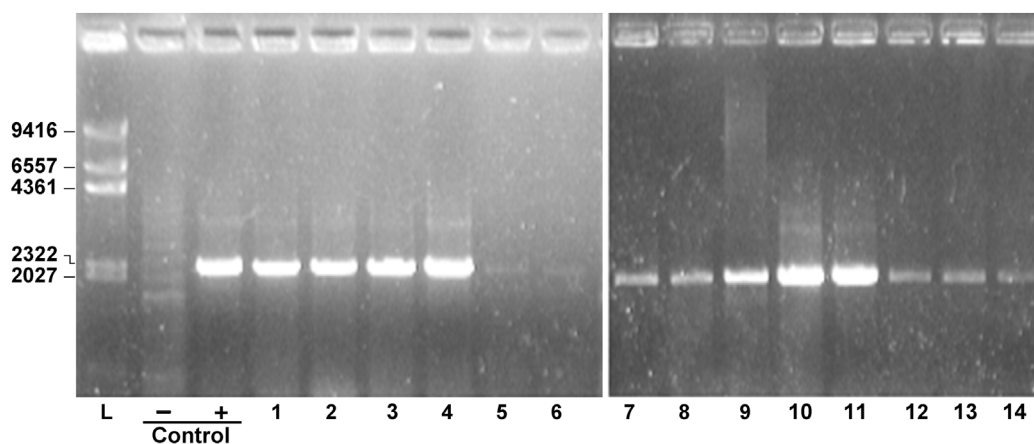
As proteínas de 75kDa de *E. coli*, obtidas por cromatografia de afinidade, em colunas de Sepharose, após eluição 1M de NaCl e 0,1% de ácido acético, foram submetidas à eletroforese (Figura 1B e C, respectivamente) e à identificação por MS. Os peptídeos trípticos da proteína de 75kDa mostrou alta identidade com a proteína envolvida na captura de ferro pela bactéria, a proteína *IutA*.

Detecção do gene *iutA* em cepas de UPEC

O fato de *IutA* ser expressa em condições que mimetizam o sítio de colonização de *E. coli* e ter sido associada à virulência⁽¹¹⁾, motivou a se determinar, neste estudo, a presença do gene *iutA* em cepas de *E. coli* e correlacioná-la à infecção bacteriana. Para detectar o gene *iutA* em cepas de UPEC, inicialmente conduziu-se uma reação de amplificação em um plasmídeo subclonado com *iutA* (pPOC9-*iutA*). Como mostrado na Figura 2, raia +, o produto amplificado tinha tamanho entre 2.322 e 2.027 pares de bases (pb), o que é consistente com o tamanho esperado de 2.202pb para o gene *iutA*. O pPOC9-*iutA* foi usado como controle positivo (Figura 2, raia +) em todas as reações.

O gene foi detectado em 14 de 37 isolados de UPEC (dados não mostrados). Para confirmar as amplificações, os isolados positivos foram submetidos a outra reação de amplificação (Figura 2). Apesar de as amostras das raías 5 e 6 apresentarem fraca amplificação, validou-se, aqui, que 14 isolados de UPEC continham o gene *iutA*, o que perfaz

uma positividade de 38% entre os isolados. Não houve nenhuma associação entre a positividade de *IutA* em UPEC e a gravidade das infecções (dados não mostrados), levando a se questionar se *IutA* seria realmente um fator de virulência de *E. coli*.



Produtos de PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose a 1% para detectar o gene *iutA* em diferentes isolados de UPEC. (L) Marcador de 1kpb de DNA, (-) controle negativo, (+) controle positivo e (1-14) isolados de UPEC. Géis foram corados com brometo de etídio. Posições de migração dos segmentos de DNA que serviram de marcador estão indicadas na esquerda da Figura em PB.

Figura 2 - Detecção do gene *iutA* em cepas de UPEC

Discussão

Até o momento, apenas algumas proteínas ligantes de carboidratos foram identificadas em *E. coli*. Além disso, o papel dessas moléculas na interação proteína-carboidrato, mediando a colonização bacteriana é pouco conhecida⁽⁶⁾. Assim, investiu-se esforço no sentido de identificar novas proteínas ligantes de carboidratos que poderiam estar envolvidas na colonização por *E. coli*. Relata-se, aqui, o isolamento e a identificação de uma proteína de 75kDa como o receptor de aerobactina férrica (*IutA*), que parece ter propriedade lectínica e ser importante para a colonização.

Curiosamente, *IutA* foi expressa apenas em *E. coli* cultivadas em meio DMEM suplementado com cálcio, o que mimetiza as condições encontradas no ambiente do intestino⁽¹²⁾. Além disso, essa proteína não foi produzida por bactérias cultivadas em caldo LB, mesmo quando suplementado com CaCl_2 (dados não mostrados), sugerindo que sinais adicionais, tais como o estresse nutricional, podem ser responsáveis pela produção dessa proteína.

A adsorção da proteína de 75kDa à Sepharose foi reproduzível, mesmo quando submetida à cromatografia de afinidade em coluna de Sepharose, o que levou à sugestão de que a proteína é um ligante de galactose, uma vez que Sepharose é um polímero que consiste

em resíduos alternados de β -D-galactopiranosose-3-O-ligada e 3,6-anidro- α -L-galactopiranosose 4-O-ligada⁽¹⁴⁾. Embora nenhuma proteína de 75kDa tenha sido eluída com 0,1M de D-galactose ou lactose da coluna (dados não mostrados), aventou-se a hipótese de que maior especificidade dessa proteína pelas unidades repetidas do dissacarídeo que compõem a agarose e baixa especificidade por monossacarídeo ou dissacarídeo, como ocorre com algumas lectinas vegetais, evitou-se a eluição da proteína. Não há dúvida de que esse é um dos motivos pelo qual a classificação das lectinas, de acordo com a especificidade por monossacarídeos, geralmente mascara as características estranhas que essas proteínas frequentemente demonstram para di, tri ou tetrassacarídeo, com constantes de associação até 1.000 vezes maior quando comparado aos monossacarídeos. Além disso, muitas vezes a conformação tridimensional do oligossacarídeo fornece estruturas complexas que não podem ser mimetizadas por açúcares simples⁽¹⁵⁾. A identificação da proteína de 75kDa de *E. coli* como *IutA*, que é um receptor para o sideróforo aerobactina férrica, foi um resultado bastante interessante, uma vez que essa molécula, implicada na captura de ferro, está envolvida no processo de colonização, sendo essencial para o crescimento bacteriano no hospedeiro^(10,16). Sideróforos e

sistemas de captação de sideróforo desempenham papel crucial na virulência microbiana, pois são essenciais para a patogênese bacteriana. No entanto, existe redundância desses sistemas, o que torna difícil a associação entre virulência e um receptor de sideróforo específico⁽¹⁷⁾. Embora IutA seja expressa em bactérias patogênicas e frequentemente seja associada à virulência⁽¹¹⁾, não se detectou o gene *iutA* preferencialmente entre os isolados de UPEC, pois apenas 38% dos isolados de UPEC apresentaram gene *iutA*. Esses achados corroboram um estudo recente⁽¹⁸⁾ que mostrou positividade em apenas 14% de isolados de urina.

Vários estudos têm demonstrado o modo de ação do receptor de sideróforos, tais como receptor de aerobactina, mas nenhuma menção tem sido feita sobre a dependência da interação proteína-carboidrato nesse sistema. Apesar de a glicosilação de proteínas em bactérias ser limitada, outros glicoconjugados são abundantes⁽¹⁹⁾. Esses glicoconjugados poderiam, de alguma forma, interagir com proteína, como em organismos de maior complexidade. Ademais, sideróforos glicosilados têm sido encontrados, como salmoquelinas, embora não esteja claro o porquê dessa modificação⁽²⁰⁾.

Conclusão

A correlação entre IutA ligante de Sepharose e sistema proteico para a absorção de ferro por *E. coli* oferece interessante investigação sobre a participação de lectinas nesse processo. A identificação de novas proteínas ligantes de carboidratos é um campo aberto para muitas descobertas, como um possível envolvimento dessas proteínas no processo de colonização de tecido. Neste estudo, demonstrou-se que, embora IutA possa ser importante para a infecção por EPEC, essa proteína não desempenha papel essencial nesse processo.

Agradecimentos

Agradecemos ao Dr. Leandro L. Oliveira, Denissami A. S. F. Lima, Izaira Brandão, Ana Paula Masson e Ana Flávia Gembre pela assistência técnica; Dr. Ebert Hanna da Invent Biotecnologia, Brasil, pelo fornecimento comensal *E. coli* e Dr. Michael O'Connell da Dublin City University, Irlanda, pela generosa doação de plasmídeo pPOC9-*iutA*. Somos gratos a Dr. Andrea Kaufmann Zeh pela revisão crítica do manuscrito.

Referencias

1. Xu J, Bjursell MK, Himrod J, Deng S, Carmichael LK, Chiang HC, et al. A genomic view of the human-

Bacteroides thetaiotaomicron symbiosis. *Science*. 2003;299(5615):2074-6.

2. Neish AS. The gut microflora and intestinal epithelial cells: a continuing dialogue. *Microbes Infect*. 2002;4(3):309-17.

3. Sharon N, Lis H. History of lectins: from hemagglutinins to biological recognition molecules. *Glycobiology*. 2004;14(11):53R-62R.

4. Aronson M, Medalia O, Schori L, Mirelman D, Sharon N, Ofek I. Prevention of colonization of the urinary tract of mice with *Escherichia coli* by blocking of bacterial adherence with methyl alpha-D-mannopyranoside. *J Infect Dis*. 1979;139(3):329-32.

5. Kucheria R, Dasgupta P, Sacks SH, Khan MS, Sheerin NS. Urinary tract infections: new insights into a common problem. *Postgrad Med J*. 2005;81:83-6.

6. Sharon N. Carbohydrates as future anti-adhesion drugs for infectious diseases. *Biochim Biophys Acta*. 2006;1760(4):527-37.

7. Hagan EC, Lloyd AL, Rasko DA, Faerber GJ, Mobley HL. *Escherichia coli* global gene expression in urine from women with urinary tract infection. *PLoS Pathog*. 2010;6(11):e1001187.

8. Foxman B, Riley L. Molecular epidemiology: focus on infection. *Am J Epidemiol*. 2001;153(12):1135-41.

9. Hagan EC, Mobley HL. Uropathogenic *Escherichia coli* outer membrane antigens expressed during urinary tract infection. *Infect Immunol*. 2007;75(8):3941-9.

10. Williams PH. Novel iron uptake system specified by ColV plasmids: an important component in the virulence of invasive strains of *Escherichia coli*. *Infect Immunol*. 1979;26(3):925-32.

11. Crosa JH, Walsh CT. Genetics and assembly line enzymology of siderophore biosynthesis in bacteria. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2002;66(2):223-49.

12. Kenny B, Abe A, Stein M, Finlay BB. Enteropathogenic *Escherichia coli* protein secretion is induced in response to conditions similar to those in the gastrointestinal tract. *Infect Immunol*. 1997;65(7):2606-12.

13. Cuiv PO, Clarke P, O'Connell M. Identification and characterization of an iron-regulated gene, *chtA*, required for the utilization of the xenosiderophores aerobactin, rhizobactin 1021 and schizokinen by *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbiology*. 2006;152(Pt 4):945-54.

14. Hamer GK, Bhattacharjee SS, Yaphe W. Analysis of the enzymic hydrolysis products of agarose by ¹³C-n.m.r. spectroscopy. *Carbohydr Res*. 1977;54(1):C7-C10.

15. Lis H, Sharon N. Lectins: Carbohydrate-Specific Proteins That Mediate Cellular Recognition. *Chem Rev*. 1998;98(2):637-74.

16. Dho M, Lafont JP. Adhesive properties and iron uptake ability in *Escherichia coli* lethal and nonlethal for chicks. *Avian Dis.* 1984;28(4):1016-25.
17. Ratledge C, Dover LG. Iron metabolism in pathogenic bacteria. *Annu Rev Microbiol.* 2000;54:881-941.
18. 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.
19. Schmidt MA, Riley LW, Benz I. Sweet new world: glycoproteins in bacterial pathogens. *Trends Microbiol.* 2003;11(12):554-61.
20. Hantke K, Nicholson G, Rabsch W, Winkelmann G. Salmochelins, siderophores of *Salmonella enterica* and uropathogenic *Escherichia coli* strains, are recognized by the outer membrane receptor IroN. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2003;100(7):3677-82.

Recebido: 4.3.2011

Aceito: 11.10.2011

Como citar este artigo:

Landgraf TN, Berlese A, Fernandes FF, Milanezi ML, Martinez R, Panunto-Castelo A. O receptor de aerobactina IutA, uma proteína isolada em coluna de agarose, não é essencial para a infecção por *Escherichia coli* uropatogênica. *Rev. Latino-Am. Enfermagem* [Internet]. mar.-abr. 2012 [acesso em: _____];20(2):[07 telas]. Disponível em: _____

URL

dia
mês abreviado com ponto
ano