شناسایی مولکولی ژنهای آمینوگلیکوزید استیل ترانسفراز در اشریشیاکلی‌های جدا شده از عفونت‌های ادراری بیماران سرپایی مراجعه کننده به بیمارستان امیرالمومنین (ع) زابل ۱۴۰۰-۱۳۹۸

زهرا یزدانپور[۱]، حمید واعظ[۱*]

۱-کارشناسی ارشد، گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زابل، زابل، ایران

۲- استادیار، گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زابل، زابل، ایران

یافته / دوره ۲۴ / شماره ۱ / بهار ۱۴۰۱ / مسلسل ۹۱

چکیده

دریافت مقاله: ۱۴۰۰/۱۱/۱۱ پذیرش مقاله: ۱۴۰۱/۲/۱۰

مقدمه: عفونت‌های ادراری یکی از شایعترین عفونتهایی می باشد که موجب مراجعه بیماران به بیمارستانها می شود. *اشریشیاکلی* از عوامل اصلی ایجاد کننده عفونت‌های ادراری می باشد. شیوع مقاومت به آنتی بیوتیک‌های آمینوگلیکوزیدی از نگرانی های سیستم های بهداشتی-درمانی در سرتاسر جهان می باشد. هدف از این مطالعه شناسایی الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی و شیوع ژنهای آمینوگلیکوزید استیل ترانسفراز در اشریشیاکلی‌های جدا شده از عفونت‌های ادراری بیماران سرپایی مراجعه کننده به بیمارستان امیرالمومنین (ع) زابل بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه توصیفی-مقطعی در فاصله زمانی مهر ۱۳۹۸ لغایت فروردین ۱۴۰۰ در مجموع ۱۱۰ جدایه *اشریشیاکلی*، از بیماران مراجعه کننده به بیمارستان امیرالمومنین (ع) زابل جمع آوری شد. پس از تعیین هویت، الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی با استفاده از روش کربی بائر و مطابق با دستورالعمل‌های موسسه استاندارد آزمایشگاهی و بالینی تعیین شد. شیوع ژنهای مقاومت آمینوگلیکوزیدی *aac(3)-Ia*، *aac(2)-Ia* و *aac(6)-Ia* با استفاده از واکنش زنجیره ای پلیمراز (PCR) مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: در این مطالعه بیشترین حساسیت آنتی بیوتیکی جدایه‌های مورد بررسی نسبت به مروپنم و جنتامایسین دیده شد، به طوری‌که ۹۱درصد جدایه‌ها به این آنتی بیوتیک‌ها حساس بودند. همچنین بیشترین مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک‌های سفالوتین و آمپی سیلین دیده شد بطوری‌که به ترتیب ۶۰ و ۹۰ درصد جدایه ها مقاوم بودند. هشت جدایه (۷درصد) حامل ژن *aac(3)-Ia* و ۵ جدایه (۴/۵ درصد) حامل ژن *aac(6)-Ia* بودند.

بحث و نتیجه‌گیری: با توجه به بالا بودن میزان مقاومت در برابر برخی از آنتی بیوتیک‌ها مانند آمپی سیلین و سفالوتین تجویز آنها باید محدود شود. براساس یافته‌های این مطالعه مقاومت دربرابر آمینوگلیکوزیدها و شیوع ژنهای آمینوگلیکوزید استیل ترانسفراز بالا نیست ولی پایش دائمی باکتری های حامل ژنهای مقاومت آمینوگلیکوزیدی جهت پیشگیری از گسترش عفونت‌های مقاوم به درمان ضروری است.

واژه‌های کلیدی: *اشریشیاکلی*، عفونت ادراری، آمینوگلیکوزید، مقاومت آنتی بیوتیکی.

*آدرس مکاتبه: زابل، دانشگاه علوم پزشکی زابل، دانشکده پزشکی، گروه میکروب شناسی.

پست الکترونیک: hamidvaez@hotmail.com

مقدمه

اشریشیاکلی شناخته شده ترین عضو خانواده انتروباکتریاسه است و باعث عفونت‌های مختلفی مانند عفونت‌های خونی، زخم و ادرار می شود (۱). عفونت‌های ادراری از شایع ترین بیماریهایی است که بسیاری از افراد جامعه در طول زندگی خود آن را تجربه می کنند. بسیاری از باکتریها می توانند موجب عفونت ادراری شوند، ولی تقریبا می توان گفت *اشریشیاکلی* در سرتاسر جهان شایع‌ترین عامل ایجاد کننده عفونت ادراری است (۲). عفونت‌های ادراری درصورتیکه به موقع و به طور مناسب درمان نشوند می توانند به کلیه‌ها آسیب رسانده و وارد جریان خون شوند (۲،۳). اهمیت عفونت‌های ادراری ناشی از *اشریشیاکلی* وقتی بیشتر می شود که بدانیم که براساس مطالعات انجام شده ۵ تا ۷ درصد عفونت های خونی با میزان مرگ و میر ۲۵ تا ۶۰ درصد ناشی از این باکتری بوده است (۳).

آنتی بیوتیک‌های مختلفی برای درمان عفونت‌های ناشی از *اشریشیاکلی* وجود دارد که از میان آنها می توان به آنتی بیوتیک‌های بتالاکتام و آمینوگلیکوزیدها اشاره کرد. آمینوگلیکوزیدها آنتی بیوتیک‌های با طیف اثر وسیع می باشند و با توجه به اینکه از طریق کلیه‌ها دفع می‌شوند گزینه مناسبی برای درمان عفونت‌های ادراری می باشند (۴). آمینوگلیکوزیدها با اتصال به زیر واحد کوچک ریبوزوم با ممانعت از پروتئین سازی موجب مرگ باکتری‌ها می شوند (۴).

آمینوگلیکوزیدها ترکیبی از گروه‌های آمینو و گروه-های قندی می‌باشند و بر اساس حلقه آمینو سیکلیتول، به دو گروه کلی تقسیم می شوند: گروه اول آمینوگلیکوزیدهایی که حلقه آمینو سیکلیتول آن‌ها استرپتیدین می‌باشد، مانند استرپتومایسین و دی هیدرو استرپتومایسین و گروه دوم آمینوگلیکوزیدهایی هستند که حلقه آمینوسیکلیتول آن‌ها داکسی استرپتامین می-باشد، مانند مشتقات جنتامایسین، نئومایسین و کاناماسین (۵).

درمان عفونت‌های ناشی از *اشریشیاکلی* با توجه به گسترش مکانیسم‌های ایجاد مقاومت در این باکتری هرسال مشکل‌تر می شود. از میان مکانیسم‌های مختلفی که باعث ایجاد مقاومت به آمینوگلیکوزیدها می شود می توان به پمپ‌های ترشحی، جهش در جایگاه هدف و آنزیم‌های تغییر دهنده آنتی بیوتیک اشاره کرد (۶).

تولید آنزیم‌های تغییر دهنده دارو از مکانیسم‌های اصلی و مهم ایجاد کننده مقاومت دربرابر آمینوگلیکوزیدها می باشد. چهار گروه اصلی آنزیم‌های تغییر دهنده عبارتند از: آمینوگلیکوزید ان- استیل ترانسفرازها (AACs)، آمینوگلیکوزید أ- فسفوترانسفرازها (APHs)، آمینوگلیکوزید أ- نوکلئوتیدیل ترانسفرازها (ANTs) و آمینوگلیکوزید أ- آدنیل ترانسفرازها (ADDs). هر کدام از این گروهها حاوی زیر گروههایی می باشند و با استفاده از استیل کوآنزیم A و یا ATP به عنوان سوبسترا باعث استیله شدن، فسفوریله شدن و آدنیله شدن گروه‌های منتخب آمینو یا هیدروکسیل از آمینوگلیکوزیدها شده و موجب مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک‌ها می شوند (۷،۸).

با توجه به نقش *اشریشیاکلی*در ایجاد عفونت های ادراری و همچنین اهمیت آمینوگلیکوزیدها در درمان عفونت‌های ناشی از آن هدف از این مطالعه شناسایی الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی و شیوع ژنهای آمینوگلیکوزید استیل ترانسفراز در *اشریشیاکلی*های جدا شده از عفونت‌های ادراری بیماران سرپایی مراجعه کننده به بیمارستان امیرالمومنین (ع) زابل در فاصله زمانی ۱۳۹۸ لغایت ۱۴۰۰ بود.

مواد و روش ها

در مجموع ۱۱۰ جدایه غیر تکراری *اشریشیاکلی* در فاصله زمانی مهر ۱۳۹۸ لغایت فروردین ۱۴۰۰ از بیماران سرپایی مبتلا به عفونت ادراری مراجعه کننده به بیمارستان آموزشی امیرالمومنین (ع) زابل جمع آوری و وارد مطالعه شد. تشخیص عفونت‌های ادراری با توجه به معیارهای بالینی و یافته های آزمایشگاهی انجام شد (۹). تعیین هویت جدایه ها با استفاده از تست های مرسوم میکروب شناسی مانند رنگ آمیزی گرم، کاتالاز، اکسیداز، تخمیر لاکتوز، اندول، متیل رد، حرکت، تولید گاز، سیترات، اوره آز و تست وگس پروسکائر انجام شد (۱۰). پس از تعیین هویت جدایه‌ها تا انجام PCR در فریزر منهای ۲۰ درجه سانتی گراد ذخیره شدند.

آزمایش حساسیت آنتی بیوتیکی

الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی بوسیله روش دیسک دیفیوژن (کربی بائر) و طبق دستورالعمل های موسسه استاندارد آزمایشگاهی و بالینی در برابر آنتی بیوتیک های زیر مورد ارزیابی قرار گرفت (۱۱). دیسک های مورد استفاده (شرکت پادتن طب، ایران) در این مطالعه عبارت اند از: آمپی سیلین (۱۰ میکروگرم)، استرپتومایسین (۱۰ میکروگرم)، مروپنم (۱۰ میکروگرم)، آمیکاسین (۳۰ میکروگرم)، سفتریاکسون (۳۰ میکروگرم)، تری متوپریم-سولفومتوکسازول(۲۵میکروگرم)، کانامایسین (۳۰ میکروگرم)، سفالوتین (۳۰ میکروگرم)، و جنتامایسین (۱۰ میکروگرم).

برای کنترل کیفی از *E. coli* ATCC 25922 و *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 استفاده شد.

شناسایی ژنهای آمینوگلیکوزید استیل ترانسفراز با استفاده از روش واکنش زنجیره ای پلیمراز (PCR)

اسیدنوکلئیک باکتریها با استفاده از روش جوشاندن استخراج شد (۱۲). به طور خلاصه، از کلونی های تازه (۲۴ ساعت) *اشریشیاکلی* که در محیط کشت بلاد آگار ایجاد شده بود ۲ تا ۳ کلونی برداشته و در ۲۰۰ میکرولیتر آب مقطر استریل بصورت یکنواخت حل شد. محلول بدست آمده به مدت ۸ دقیقه در حمام آب جوش (۱۰۰ درجه سانتی گراد) قرار داده شد. سرانجام پس از خنک شدن محلول در محیط آزمایشگاه و سانتریفیوز در دور ۱۳۰۰۰g از محلول رویی برای واکنش PCR استفاده شد. کیفیت اسیدنوکلئیک استخراج شده با استفاده از الکتروفورز و اسپکتروفتومتر ارزیابی شد. از مستر میکس های آماده شرکت آمپلیکون (دانمارک) برای واکنش PCR استفاده شد. واکنش PCR در محلول با حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر شامل ۱۵ میکرولیتر از مستر میکس آماده، ۲ میکرولیتر DNA استخراج شده (۵۰ میکرومول)، ۱/۵ میکرولیتر پرایمر رفت (۱۰۰ پیکومول، شرکت متابیون آلمان) و ۱/۵ میکرولیتر پرایمر برگشت (۱۰۰ پیکومول، شرکت متابیون آلمان) انجام شد (جدول ۱) (۱۳). برنامه ترموسایکلر استفاده شده عبارت بود از: واسرشت سازی اولیه ۹۵ درجه سانتی گراد ۵ دقیقه، ۳۰ چرخه شامل واسرشت سازی ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۴۰ ثانیه، اتصال پرایمر (۵۵ درجه سانتیگراد برای *aac(3)- Ia*، ۵۳ درجه سانتی گراد برای *aac(2)- Ia* و ۵۶ درجه سانتی گراد برای *aac(6)-Ia* به مدت ۴۰ ثانیه)، طویل سازی ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۵۰ ثانیه، و در نهایت طویل سازی نهایی ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۵دقیقه. محصولات PCR با استفاده از الکتروفورز ژل آگارز یک درصد جداسازی و پس از رنگ آمیزی با رنگ سایبر سیف (Thermo Fisher Scientific Inc.) مشاهده شد (۱۳).

آنالیز آماری

نتایج با استفاده از تست‌های Chi-square و Fisher's exact testو نـرم افـزار SPSS 16 (SPSS Chicago, IL) آنالیز و ۰/ ۰۵≥P value از نظر آمـاری معنـی دار در نظـر گرفته شد.

جدول ۱. توالی پرایمرهای استفاده شده برای واکنش PCR

ژن	توالی(3...5)	طول قطعه (جفت باز)	منبع
aac(3)-Ia	**F- GCAGTCGCCCTAAAACAAA R- CACTTCTTCCCGTATGCCCAACTT**	**441**	(۱۳)
aac(2)-Ia	**F- AGAAGCGCTTTACGATTTATTA R- GACTCCGCCTTCTTCTTCAA**	**406**	(۱۳)
aac(6)-Ia	**F- ATGAATTATCAAATTGTG R- TTACTCTTTGATTAAACT**	**558**	(۱۳)

یافته‌ها

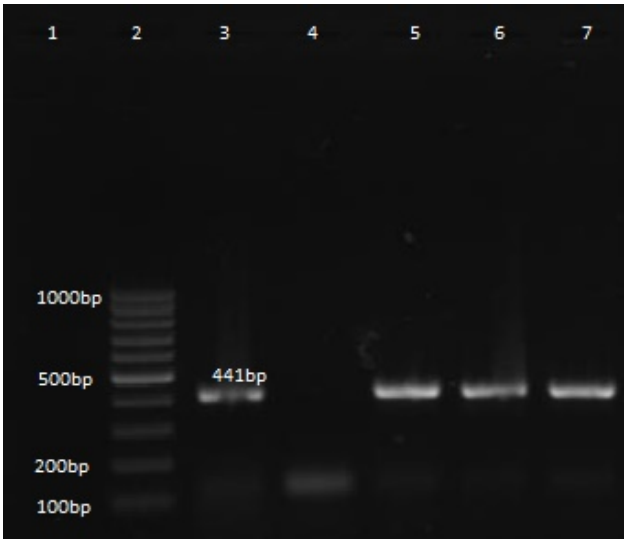
در مطالعه حاضر ۱۱۰ جدایـه *اشریشـیاکلی* جمـع آوری شـده از بیمـاران سـرپایی مراجعـه کننـده بـه بیمارستان امیرالمومنین (ع) زابـل مـورد مطالعـه قـرار گرفت. در مجموع ۷۵ نمونه (۶۸درصد) از خانم‌ها و ۳۵ نمونه (۳۲درصد) از آقایان جمـع آوری شـد (P ۰/ ۰۵ ≥). در این مطالعه بیشترین حساسـیت آنتـی بیـوتیکی جدایه‌های مورد بررسی، نسبت به مروپنم دیده شد بـه طوری‌که ۱۰۰ جدایه (۹۱ درصد) به این آنتی بیوتیـک حسـاس بودنـد. بیشـترین مقاومـت نسـبت بـه آنتـی بیوتیک‌های سفالوتین و آمپی سیلین دیده شد بطوری- که به ترتیب ۶۰ و ۹۰ درصد جدایه ها مقاوم بودند. در جدول شماره ۲ الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی جدایه - های مورد بررسی نسبت به آنتی- بیوتیک‌های مختلـف نشان داده شده اسـت. از مجمـوع ۱۱۰ نمونـه بررسـی شـده ۸ جدایـه (۷درصـد) حامـل ژن *aac(3)-Ia* و ۵ جدایه (۴/۵ درصد) حامل ژن *aac(6)-Ia* بودند (شکل ۱ و ۲). مقاومـت ایـن جدایـه‌ها در برابـر سـایر آنتـی بیوتیک ها بالا بود (جدول ۳).

جدول ۲. الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی ایزوله های مورد مطالعه

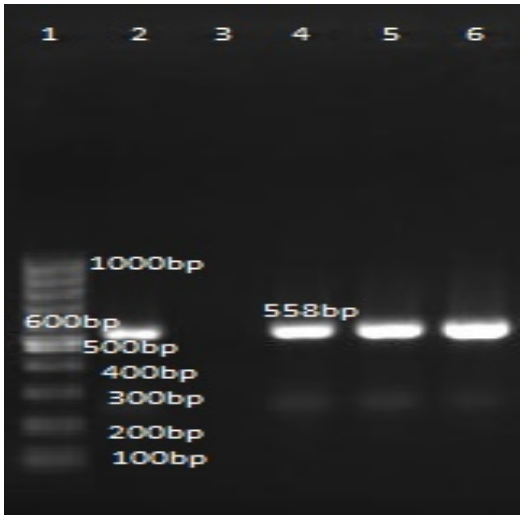
مقاومت آنتی بیوتیک	حساس(درصد)	حساس نسبی (درصد)	مقاوم (درصد)
کانامایسین	۹۷(۸۸)	۰(۰)	۱۳(۱۲)
مروپنم	۱۰۰(۹۱)	۰(۰)	۱۰(۹)
جنتامایسین	۱۰۰(۹۱)	۰(۰)	۱۰(۹)
آمیکاسین	۹۷(۸۸)	۱(۱)	۱۲(۱۱)
سفتریاکسون	۷۰(۶۳/۶)	۵(۴/۵)	۳۵(۳۱/۹)
سفالوتین	۳۹(۳۵/۵)	۵(۴/۵)	۶۶(۶۰)
استرپتومایسین	۹۰(۸۱/۸)	۴(۳/۶)	۱۶(۱۴/۵)
آمپی سیلین	۱۱(۱۰)	۰(۰)	۹۹(۹۰)
تری متوپریم- سولفومتوکسازول	۴۴(۴۰)	۰(۰)	۶۶(۶۰)

جدول ۳. ویژگی های ایزوله های مقاوم به جنتامایسین و حامل ژنهای امینوگلیکوزید استیل ترانسفراز

شماره نمونه	ژن			مقاومت به آمینوگلیکوزیدها	مقاومت به سایر آنتی بیوتیک
	aac(3)-Ia	*aac(6)-Ia*	*aac(2)-Ia*		
۱	+	–	–	جنتامایسین، کانامایسین، استرپتومایسین	سفتریاکسون، سفالوتین، آمپی سیلین، تری متوپریم
۲	+	–	–	جنتامایسین، استرپتومایسین	سفتریاکسون، سفالوتین، آمپی سیلین، تری متوپریم
۳	+	+	–	جنتامایسین، کانامایسین، استرپتومایسین، آمیکاسین	سفتریاکسون، سفالوتین، آمپی سیلین، تری متوپریم-سولفومتوکسازول، مروپنم
۴	+	–	–	جنتامایسین، کانامایسین	سفتریاکسون، سفالوتین، آمپی سیلین، تری متوپریم-سولفومتوکسازول
۵	+	–	–	جنتامایسین، کانامایسین، استرپتومایسین	سفتریاکسون، سفالوتین، آمپی سیلین، تری متوپریم-سولفومتوکسازول، مروپنم
۶	+	–	–	جنتامایسین، استرپتومایسین	سفتریاکسون، سفالوتین، آمپی سیلین، تری متوپریم-سولفومتوکسازول
۷	+	+	–	جنتامایسین، کانامایسین، استرپتومایسین، آمیکاسین	سفتریاکسون، سفالوتین، آمپی سیلین، تری متوپریم-سولفومتوکسازول، مروپنم
۸	+	–	–	جنتامایسین، استرپتومایسین، کانامایسین	سفتریاکسون، سفالوتین، آمپی سیلین، تری متوپریم-سولفومتوکسازول، مروپنم
۹	–	+	–	جنتامایسین،آمیکاسین، کانامایسین	سفتریاکسون، سفالوتین، آمپی سیلین، تری متوپریم-سولفومتوکسازول،مروپنم
۱۰	–	+	–	آمیکاسین، جنتامایسین، استرپتومایسین	سفتریاکسون، سفالوتین، آمپی سیلین، تری متوپریم-سولفومتوکسازول
۱۱	–	+	–	آمیکاسین، کانامایسین، استرپتومایسین	سفتریاکسون، سفالوتین، آمپی سیلین، تری متوپریم-سولفومتوکسازول



شکل ۱. نتایج الکتروفورز محصولات PCR ژن aac(3)-Ia . چاهک اول کنترل منفی، چاهک دوم DNA Ladder (100 bp) ، چاهک سوم کنترل مثبت، چاهک چهارم نمونه بالینی منفی، چاهک های ۵ تا ۷ نمونه بالینی مثبت



شکل ۲. نتایج الکتروفورز محصولات ژن aac (6)-Ia . چاهک اول DNA Ladder (100 bp)،
چاهک دوم کنترل مثبت، چاهک سوم کنترل منفی، چاهک چهارم تا ششم نمونه بالینی مثبت.

بحث و نتیجه گیری

با توجه به گسترش روزافزون مقاومت آنتی بیوتیکی درمیان باکتریها، انجام مطالعاتی جهت شناخت الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی و سازوکارهای های ایجاد مقاومت در هر منطقه کاملا ضروری است. به همین منظور، در مطالعه حاضر الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی و همچنین شیوع ژنهای آمینوگلیکوزید استیل ترانسفراز در ۱۱۰ جدایه *اشریشیاکلی* بدست آمده از عفونت‌های ادراری بیماران مراجعه کننده به بیمارستان امیرالمومنین (ع) زابل مورد ارزیابی قرار گرفت.

در مطالعه حاضر میزان متفاوتی از مقاومت در برابر آنتی بیوتیک‌های مختلف دیده شد. بیشترین میزان مقاومت در برابر آمپی سیلین و سفالوتین دیده شد به طوریکه به ترتیب ۹۰ و ۶۰ درصد جدایه ها در برابر این آنتی بیوتیک‌ها مقاوم بودند. نتایج مطالعات مختلف نشان داده است که میزان مقاومت در برابر آمپی سیلین در ایران بسیار بالا می باشد (۱۴). برای مثال نتایج مطالعات مستقل انجام شده در رشت و تهران نشان داده است که بیش از ۷۵ درصد جدایه‌های مورد بررسی در برابر آمپی سیلین مقاوم بوده اند (۱۴،۱۵). همچنین میزان مقاومت در برابر سفالوسپورین ها در شهر های مختلف ایران مانند کرمانشاه، همدان و اصفهان به ترتیب ۷۳، ۸۵ و ۵۹ درصد گزارش شده است. عوامل مختلفی مانند دسترسی آسان به آنتی بیوتیک‌ها و استفاده گسترده و بدون تجویز پزشک می تواند موجب شیوع گسترده مقاومت در برابر این آنتی بیوتیک‌ها شده باشد (۱۶).

معمولاً از آمینوگلیکوزیدها و کاربانپم‌ها برای درمان عفونت‌های مقاوم به درمان استفاده می شود، به همین دلیل شیوع جدایه‌های مقاوم در برابر این آنتی بیوتیک‌ها می تواند منجر به شیوع عفونت‌های مقاوم به درمان و افزایش هزینه‌های درمانی و مرگ و میر بیماران شود. در مطالعه حاضر میزان مقاومت در برابر مروپنم (کاربانپم) و جنتامایسین و آمیکاسین (آمینوگلیکوزید) پایین بود به طوریکه حدود ۹ درصد از جدایه‌های مورد بررسی در برابر این آنتی بیوتیک‌ها مقاوم بودند. این میزان مقاومت بیشتر از میزان مقاومت گزارش شده از اکثر کشورهای اتحادیه اروپا می باشد. به عنوان مثال میزان مقاومت در برابر کاربانپم‌ها در فنلاند، کرووواسی، چک، ایسلند، اسلوونی و بلغارستان صفر درصد گزارش شده است (۱۷). همچنین، میزان مقاومت در برابر آمینوگلیکوزیدها در هلند، سوئد، دانمارک، ایسلند و فنلاند حدود ۶ درصد گزارش شده است (۱۷).

در یک مطالعه مستقل که در بیمارستانهای تهران انجام شده است میزان مقاومت به جنتامایسین، کانامایسین و آمیکاسین به ترتیب ۲۱، ۲۳ و ۳ درصد گزارش شده است (۱۸). همچنین، نتایج مطالعه جامع انجام شده برروی نمونه‌های *اشریشیا کلی* جدا شده از عفونت‌های ادراری در ایران نشان داده است که میانگین میزان مقاومت به آمیکاسین در ایران ۱۲ درصد می باشد که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد (۱۹).

باید به این موضوع توجه کرد که عوامل مختلفی می تواند نتایج میزان مقاومت در برابر آنتی بیوتیک‌ها را تحت تاثیر قرار دهد. به عنوان مثال عدم رعایت اصول بهداشتی و کنترل عفونت در بیمارستان، عدم استفاده صحیح از آنتی بیوتیک ها، بستری شدن در بخش مراقبت های ویژه و حتی نوع و شرایط انجام تست های ارزیابی میزان مقاومت می تواند تاثیر گذار باشد (۱۶-۱۲).

در این مطالعه میزان شیوع ژنهای *aac(3)-Ia*، *aac(2)-Ia* و *aac(6)-Ia* مورد ارزیابی قرار گرفت و حدود ۷ و ۵ درصد جدایه ها حامل ژن *aac(3)-Ia* و *aac(6)-Ia* بودند. در مطالعه‌ای که در لهستان انجام شده است ژن *aac(3)-Ia* در ۱۶ درصد از نمونه- های *اشریشیاکلی* مورد بررسی دیده شده و از شایعترین مکانیسم‌های ایجاد مقاومت در برابر آمینوگلیکوزیدها بوده است (۲۰).

برخلاف نتایج مطالعه حاضر، در مطالعات مشابهی که در اسپانیا و استرالیا انجام شده است شایع ترین ژن های گزارش شده *aac(6)-Ib* و *aac(3)-II a* بوده است (۲۱). به طوریکه فراوانی ژن *aac(6)-Ib* و *aac(3)IIa* در اسپانیا و استرالیا به ترتیب ۵۷ و ۲۱ درصد و ۱۴ و ۷۴ درصد گزارش شده است (۲۱).

در مطالعه حاضر تمام نمونه های مقاوم به آمینوگلیکوزید ها حامل ژن های *aac(3)-Ia*، *aac(2)-Ia* و *aac(6)-Ia* نبودند. در واقع از ۱۰ نمونه مقاوم به جنتامایسین فقط ۸ نمونه حامل ژن *aac(3)-Ia* و از ۱۲ نمونه مقاوم به آمیکاسین فقط ۵ نمونه حامل ژن *-aac(6)-Ia* بودند (جدول ۳). نتایج مطالعات مختلف نشان داده است که مکانیسم‌های مختلفی در ایجاد مقاومت در برابر آمینوگلیکوزیدها نقش دارند. به عنوان مثال انواع آنزیم های آمینوگلیکوزید استیل ترانسفراز مانند *aac(6)-Ib* ، *aac(3)IIa* ، *aac(6)-IIa* و همچنین انواع آنزیم‌ها ی نوکلئوتید نرانسفراز (ANT) وجود دارد که باعث ایجاد مقاومت در برابر آمینوگلیکوزیدها می شوند. به مکانیسم‌های ذکر شده می توان پمپ های ترشحی و جهش در پورین های غشای خارجی را نیز اضافه کرد (۲۲-۲۷).

از محدودیت‌های این مطالعه عدم بررسی تمام سازوکارها و ژنهای ایجاد کننده مقاومت در برابر آمینوگلیکوزیدها و همچنین عدم بررسی میزان مقاومت با استفاده از روش های کمی مانند میکرودایلوشن و یا آگار دایلوشن می باشد.

بر اساس نتایج مطالعه حاضر میزان مقاومت در برابر آمپی سیلین و سفالوتین بالا می‌باشد و تجویز آنها باید محدود شود. هر چند میزان مقاومت در برابر آمینوگلیکوزیدها و شیوع ژنهای آمینوگلیکوزید استیل ترانسفراز دراین مطالعه بالا نبود، ولی با توجه به اینکه این ژنهای مقاومت برروی عناصر ژنتیکی متحرک مانند ترانسپوزون‌ها و پلاسمیدها قراردارند و می‌توانند بین باکتریهای مختلف منتقل شوند شیوع آنها باید مدام مورد ارزیابی قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

این مقاله نتیجه طرح تحقیقاتی با عنوان شناسایی مولکولی و فنوتیپی ژن های آمینوگلیکوزید استیل ترانسفراز در ایزوله های بالینی *اشریشیاکلی* (*E.coli*) جدا شده از بیماران مراجعه کننده به بیمارستان امیرالمومنین (ع) زابل می باشد. این طرح با حمایت مالی معاونت تحقیقات و فن آوری دانشگاه علوم پزشکی زابل (با کد اخلاق IR.ZBMU.REC.1398.214) انجام شده است.

References

1. Sadeghi M, Ebrahim-Saraie HS, Mojtahedi A, Nikokar I, Roushan ZA. Genetic diversity and prevalence of aminoglycoside modifying enzymes among Escherichia coli strains isolated from inpatients with urinary tract infections. Gene Reports. 2020; 21:1-10.
2. Connie R, Mahon L, Donald C. Textbook of diagnostic microbiology, 6th ed. New York: Elsevier, 2018: 137-157
3. Hatton NE, Baumann CG, Fascione MA. Developments in Mannose-Based Treatments for Uropathogenic Escherichia coli-Induced Urinary Tract Infections. Chembiochem. 2021; 22(4):613-629.
4. Goodlet KJ, Benhalima FZ, Nailor MD. A systematic review of single-dose aminoglycoside therapy for urinary tract infection: is it time to resurrect an old strategy? Antimicrobial agents chemotherapy. 2018; 63(1): 1-9.
5. Jospe-Kaufman M, Siomin L, Fridman M. The relationship between the structure and toxicity of aminoglycoside antibiotics. Bioorganic medicinal chemistry letter. 2020:30(13):1-6.
6. Peterson E, Kaur P. Antibiotic resistance mechanisms in bacteria: relationships between resistance determinants of antibiotic producers, environmental bacteria, and clinical pathogens. Frontier in microbiology. 2018; 9:1-21.
7. Doi Y, Wachino JI, Arakawa Y. Aminoglycoside Resistance: The Emergence of Acquired 16S Ribosomal RNA Methyltransferases. Infectious Disease Clinical North America. 2016; 30(2):523-537.
8. Garneau-Tsodikova S, Labby KJ. Mechanisms of Resistance to Aminoglycoside Antibiotics: Overview and Perspectives. Med chemcomm. 2016; 7(1):11-27.
9. Geerlings SE. Clinical Presentations and Epidemiology of Urinary Tract Infections. Microbiology Spectrum. 2016; 4(5): 1-15.
10. Mahon C, Lehman, D, Manuselis G. Text Book of Diagnostic Microbiology. 4th Ed. New York, NY, USA: Elsevier, 2011:427-462
11. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 28th ed. CLSI supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018:30-38.
12. Delarampour A, Ghalehnoo ZR, Khademi F, Vaez H. Antibiotic resistance patterns and prevalence of class I, II and III Integrons among clinical isolates of Klebsiella pneumoniae. Infez Medicine. 2020; 28(1):64-9.
13. Miró E, Grünbaum F, Gómez L, Rivera A, Mirelis B, Coll P, Navarro F. Characterization of aminoglycoside-modifying enzymes in Enterobacteriaceae clinical strains and characterization of the plasmids implicated in their diffusion. Microbial drug resistance. 2013; 19(2):94-9.
14. Alizade H. Escherichia coli in Iran: An Overview of Antibiotic Resistance: A Review Article. Iranian Journal of Public Health. 2018; 47(1):1-12.

15. Haghighatpanah M, Mojtahedi A. Characterization of antibiotic resistance and virulence factors of Escherichia coli strains isolated from Iranian inpatients with urinary tract infections. Infection Drug Resistance. 2019; 12:2747-2754.
16. Delarampour A, Ghalehnoo ZR, Khademi F, Delarampour M, Vaez H. Molecular detection of carbapenem-resistant genes in clinical isolates of Klebsiella pneumoniae. Annali di Igiene. 2019; 31(4):349-355.
17. European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2015. Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS- Net). Stockholm: ECDC; 2017: 7-30.
18. Soleimani, N., Aganj, M., Ali, L. Frequency distribution of genes encoding aminoglycoside modifying enzymes in uropathogenic E. coli isolated from Iranian hospital. BMC Res Notes. 2014; 7: 1-5.
19. Akya A, Salimi Ghale E, N. Resistance to Aminoglycoside Antibiotics in Escherichia coli Isolated from Urinary Tract Infection in Iran in 2000-2012: A Systematic Review. Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences. 2019; 18 (3):285-304
20. Ojdana D, Sieńko A, Sacha P, Majewski P, Wieczorek P, Wieczorek A, Tryniszewska E. Genetic basis of enzymatic resistance of E. coli to aminoglycosides. Advances medical sciences. 2018; 63(1):9-13.
21. Fernández-Martínez M, Ruiz Del Castillo B, Lecea-Cuello MJ, Rodríguez-Baño J. Prevalence of Aminoglycoside-Modifying Enzymes in Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae Producing Extended Spectrum β-Lactamases Collected in Two Multicenter Studies in Spain. Microbial Drug Resistance. 2018; 24(4):367-376.
22. Peerayeh SN, Rostami E, Siadat SD, Derakhshan S. High rate of aminoglycoside resistance in CTX-M-15 producing Klebsiella pneumoniae isolates in Tehran, Iran. Laboratory medicine. 2014; 45(3):231-7.
23. Soleimani N, Derakhshan S, Memariani M. Plasmid profile analysis of aminoglycoside-resistant Escherichia coli isolated from urinary tract infections. International Journal of Enteric Pathogen. 2016; 4(2):1-7.
24. Wachino JI, Doi Y, Arakawa Y. Aminoglycoside resistance: updates with a focus on acquired 16S ribosomal RNA methyltransferases. Infectious Disease Clinical North America. 2020 1; 34(4):887-902.
25. Davin-Regli A, Ferrand A. Clinical Status of Efflux Resistance Mechanisms in Gram-Negative Bacteria. Antibiotics. 2021; 10(9):1117.
26. Krause KM, Serio AW, Kane TR, Connolly LE. Aminoglycosides: An Overview. Cold Spring Harbor Perspective Medicine. 2016; 6(6): 1-18.
27. Hasan CM, Dutta D, Nguyen AN. Revisiting Antibiotic Resistance: Mechanistic Foundations to Evolutionary Outlook. Antibiotics. 2022; 11(1): 1-23.

Molecular Detection of Aminoglycoside Acetyltransferases Genes in Escherichia coli Isolated from Community-Acquired Urinary Tract Infections of Patients Referred to Amiralmomenin Hospital, Zabol, 2019-2021

Yazdanpour Z[1], Vaez H[1*]
1. MSc,Department of Microbiology, School of Medicine, Zabol University of Medical Sciences, Zabol, Iran
2. Assistant professor, Department of Microbiology, School of Medicine, Zabol University of Medical Sciences, Zabol, Iran, hamidvaez@hotmail.com

Received: *2022/01/31* Accepted: *2022/04/30*

Abstract

Background: Urinary tract infection (UTI) is one of the most prevalent infections in patients referred to hospitals. Escherichia coli (E. coli) is the leading cause of UTI. Emerging and spreading infection by aminoglycoside resistant isolates is a healthcare concern worldwide. The present study aimed to investigate the antibiotic resistance patterns and prevalence of aminoglycoside acetyltransferases genes in E. coli isolated from UTI.

Materials and Methods: A total of 110 non-duplicate isolates were collected from patients referred to Amiralmomenin Hospital, Zabol, Iran, from September 2019 to April 2021. Antibiotic resistance profiles were determined using the Kirby-Bauer test according to guidelines of Clinical Laboratory Standard Institutes (CLSI). The prevalence of aminoglycoside acetyltransferases genes (aac (3)-Ia, aac (6)-Ia, and aac (2)-Ia) was determined by PCR.

Results: In this study, 90% of isolates were susceptible to meropenem and gentamycin. Also, the highest resistance of isolates was against ampicillin with 90% and cephalothin with 60%. Eight (7%) and 5 (4.5%) of isolates were *aac (3)-Ia* and *aac (6)-Ia* positive, respectively.

Conclusion: Prescribing ampicillin and cephalothin should be restricted due to their high resistance. Based on the findings of the present study, the prevalence of *aac (3)-Ia* and *aac (6)-Ia* genes was not at a high level, however, constant monitoring must be conducted to control the spread of infection by drug-resistance isolates.

Keywords: Aminoglycoside, Antibiotic Resistance, *Escherichia coli*, Urinary Tract Infection

Citation: Yazdanpour Z, Vaez H. Molecular Detection of Aminoglycoside Acetyltransferases Genes in Escherichia coli Isolated from Community-Acquired Urinary Tract Infections of Patients Referred to Amiralmomenin Hospital, Zabol, 2019-2021. Yafte. 2022; 24(1):1-10.