مقاله پژوهشی

مجله میکروب‌شناسی پزشکی ایران

سال ۷ – شماره ۲ – تابستان ۱۳۹۲

Journal homepage: www.ijmm.ir

فراوانی ژن *aac(3)-IIa* در ایزوله‌های بالینی *اشریشیا کلی* جداشده از بیماران مبتلا به عفونت ادراری در شهرستان دلفان لرستان در سال ۱۳۸۹

سمیه مومنی مفرد[۱]، غلامرضا گودرزی[۲]، پگاه شکیب[۲]، جمیله نوروزی[۱]

۱. گروه میکروب شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم تحقیقات تهران، تهران، ایران

۲. گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران

اطلاعات مقاله

تاریخچه مقاله

دریافت:۱۳۹۲/۰۱/۱۰

پذیرش:۱۳۹۲/۰۴/۱۰

انتشار آنلاین:۱۳۹۲/۱۲/۱۵

IJMM 1392; 7(2): P 20-26

نویسنده مسئول:

غلامرضا گودرزی

گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران

تلفن: ۰۹۱۲۷۱۰۰۵۵۲

پست الکترونیک:

Goudarzi.gh@gmail.com

چکیده

زمینه و اهداف: آمینوگلیکوزیدها طیف وسیعی از پادزیست‌های باکتری کش مفید علیه سویه‌های بیماری‌زای ادراری *اشریشیا کلی* می باشند مهم‌ترین سازوکار مقاومت به این پادزیست‌ها ناشی از آنزیم‌های تغییردهنده آمینوگلیکوزیدها مانند آمینوگلیکوزید استیل ترانسفرازهاست (ACs). هدف از این مطالعه، تعیین الگوی حساسیت میکروبی آمینوگلیکوزیدها و تعیین فراوانی ژن *aac(3)-IIa* در بین ایزوله‌های *اشریشیا کلی* جمع‌آوری شده از شهرستان دلفان لرستان در سال ۱۳۸۹ بود.

مواد و روش کار: در این مطالعه توصیفی، در یک دوره ۵ ماهه از تیرماه تا آبان ماه ۱۳۸۹، ۱۰۰ ایزوله *اشریشیا کلی* یوروپاتوژن از بیماران بستری در بیمارستان ابن‌سینای شهرستان دلفان لرستان جمع‌آوری شد. الگوی حساسیت ایزوله‌ها با روش انتشار از دیسک بر اساس دستورالعمل های *CLSI* نسبت به پادزیست های جنتامیسین، کانامایسین، آمیکاسین، نئومایسین، نیتروفورانتوئین، تتراسایکلین، آمپی-سیلین، ایمی پنم، سفتازیدیم، تری متوپریم-سولفامتوکسازول و سیپروفلوکساسین مشخص گردید. فراوانی ژن *aac(3)-IIa* در بین ایزوله ها به روش *PCR* تعیین و ارتباط بین فنوتیپ مقاومت به آمینوگلیکوزیدها و حضور این ژن بررسی گردید. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار *SPSS 16* و آزمون *Chi-squared* مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. در همه موارد، $P<0.05$ معنی‌دار تلقی گردید.

یافته‌ها: در بین ۱۰۰ ایزوله مورد آزمایش، بیش‌ترین مقاومت به آمپی سیلین دیده شد (۸۵٪)؛ هیچ مقاومتی نسبت به ایمی پنم مشاهده نگردید. همچنین ۶۰٪ نمونه‌ها حداقل نسبت به یکی از آمینوگلیکوزیدهای مورد آزمایش مقاوم بودند که میزان مقاومت نسبت به این آنتی بیوتیک به صورت زیر بود: جنتامیسین ۳۹٪، نئومایسین ۳۱٪، کانامایسین ۲۶٪ و آمیکاسین ۱٪. از میان ایزوله‌های بررسی‌شده، ٤٤ ایزوله (٤٤٪) ژن *aac(3)-IIa* را با خود حمل می‌کردند که در این میان بیش‌ترین حضور ژن (۳۶ ایزوله، ۹۲٫۳٪) در بین ایزوله‌های با فنوتیپ مقاومت به جنتامیسین (۳۹ ایزوله، ۳۹٪) بود.

نتیجه‌گیری: بر پایه یافته‌های ما، در مواردی که عفونت های مجاری ادراری به طور تجربی درمان می‌شوند استفاده ازپادزیست هایی مانند نیتروفورانتوئین، آمیکاسین یا ایمی پنم برای دستیابی به درمان موثر عفونت توصیه می‌شود. به علاوه، توزیع نسبتاً وسیع ژن *aac(3)-IIa* در منطقه، باعث نگرانی توسعه مقاومت علیه آمینوگلیکوزیدهای موثری چون جنتامیسین، توبرامیسین و غیره در آینده خواهد شد.

کلمات کلیدی : اشریشیا کلی، عفونت های مجاری ادراری، آنزیم‌های تغییردهنده آمینوگلیکوزیدها، *aac(3)-IIa*

کپی‌رایت ©: حق چاپ، نشر و استفاده علمی از این مقاله برای مجله میکروب‌شناسی پزشکی ایران محفوظ است.

مقدمه

عفونت‌های مجاری ادراری (Infections Urinary Tract) از شایع‌ترین عفونت‌های بیمارستانی است که در تمام گروه‌های سنی اتفاق می‌افتد (۱). این عفونت‌ها توسط تعداد زیادی از عوامل بیماری زا (پاتوژن‌ها) با الگوی حساسیت پادزیستی

متفاوت، ایجاد می‌گردند. شایع‌ترین پاتوژن جداشده از عفونت های مجاری ادراری سویه‌های *اشریشیا کلی* یوروپاتوژن (Uropathogenic *Escherichia coli*) است که اغلب از فلور روده‌ای فرد منشأ می‌گیرند (۲). این سویه‌ها عامل ۹۰-۷۵ درصد عفونت ادراری اکتسابی از جامعه و ۵۰ درصد عفونت ادراری بیمارستانی هستند (۳). افزایش مقاومت پادزیستی بخصوص در میزراه‌پزشکی (اورولوژی) یک مشکل در حال افزایش است و چون پادزیست‌ها به طور گسترده در طب مدرن به‌کاربرده می‌شوند؛ بنابراین مقاومت‌های پادزیستی برای اورولوژیست ها از اهمیت بالایی برخوردار است (۴). یک دسته مهم از پادزیست‌های رایج، خانواده آمینوگلیکوزیدها است. آمینوگلیکوزیدها دارای طیف ضد باکتری گسترده‌ای می‌باشند و بیش‌ترین کاربرد را در درمان عفونت‌های ناشی از باسیل‌های گرم منفی هوازی و بی‌هوازی اختیاری از جمله *اشریشیا کلی* دارند. پادزیست‌های آمینوگلیکوزیدی ریبوزوم باکتری را مورد هدف قرار داده و در مرحله ترجمه‌ی پروتئین‌ها اختلال ایجاد می‌کنند. اغلب آمینوگلیکوزیدها باکتری کش هستند؛ که بخشی از فعالیت کشندگی آنها به دلیل ایجاد خطا در هنگام خواندن نسخه mRNA است که منجر به تولید پروتئین‌های ناقص می‌شود (۷-۵). امروزه بروز و ظهور مقاومت نسبت به این پادزیست‌ها تأثیر عمیقی در کاربرد بالینی‌شان داشته است. به طور کلی مقاومت به آمینوگلیکوزیدها به سه روش ایجاد می‌شود که عبارت‌اند از:1) تغییر در هدف دارو ۲) تغییر در نقل و انتقال دارو ۳) غیر فعال‌سازی آنزیماتیک به وسیله‌ی تولید آنزیم‌های تغییردهنده آمینوگلیکوزیدها (Aminoglycoside Modifying Enzymes=AMEs) از میان این سه سازوکار، غیرفعال شدن توسط آنزیم‌های تغییردهنده، شایع‌ترین سازوکار مقاومت در بین اکثر ایزوله‌های بالینی می‌باشد (۱۱-۸). این آنزیم‌ها به سه خانواده اصلی و بزرگ طبقه‌بندی می‌شوند که شامل: آمینوگلیکوزید N- استیل‌ترانسفرازها (Acetyl glycoside Amino=AACs transferases)، آمینوگلیکوزید O- نوکلئوتیدیل‌ترانسفرازها و آمینوگلیکوزید O- فسفوترانسفرازها. این آنزیم‌ها با استفاده از استیل کوآنزیم A و یا ATP باعث استیله شدن، آدنیله شدن و یا فسفوریله شدن گروه‌های منتخب آمین یا هیدروکسیل آمینوگلیکوزیدهای هدف می‌شوند (۱۵-۱۲). آمینوگلیکوزید استیل ترانسفرازها (AACs) یکی از چهار گروه آمین پادزیست‌های آمینوگلیکوزیدی را استیله می‌کنند. این آنزیم‌ها را در باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی می‌توان ردیابی کرد. این خانواده از چهار رده بزرگ، بر اساس مکان اختصاصی انتقال گروه استیل بر روی آمینوگلیکوزید، تشکیل شده است که شامل: AAC(6´)، AAC(2´)، AAC(1) وAAC(3) می‌باشند. در این میان، استیل ترانسفرازهای AAC(3)، شایع‌ترین آنزیم در خانواده انتروباکتریاسه به شمار می‌آیند. سوبستراى آنزیم AAC(3)-II جنتامیسین و توبرامایسین می‌باشد و سه ژن *aac(3)-IIa* و *aac(3)-IIb* و *aac(3)-IIc* کد کننده آنزیم های مقاومت به این پادزیست‌ها هستند. هدف از این مطالعه، تعیین الگوی حساسیت میکروبی با تمرکز بر آمینوگلیکوزیدها و تعیین فراوانی و ارتباط حضور ژن *aac(3)-IIa* در ایجاد مقاومت به این آنتی بیوتیک در بین ایزوله‌های *اشریشیا کلی* یوروپاتوژن جدا شده از بیماران مبتلا به عفونت ادراری بود.

مواد و روش‌ها:

در یک دوره ۵ ماهه از تیر ماه لغایت آبان ماه ۱۳۸۹، تعداد ۱۰۰ ایزوله *اشریشیا کلی* یوروپاتوژن از بیماران بستری در بیمارستان ابن‌سینای شهرستان دلفان استان لرستان جمع‌آوری شد. کلیه سویه‌ها با استفاده از روش های استاندارد تشخیصی و بیوشیمیایی تأیید هویت گردیدند (۱۶). سوسپانسیون های باکتری در محیط کشت TSB (Trypticase Soy Broth) حاوی ۲۰ درصد گلیسرول در ۷۰- درجه ساسیوس نگهداری شدند.

تعیین الگوی حساسیت پادزیستی:

حساسیت آنتی بیوتیکی سویه‌ها، به روش انتشار از دیسک (کربی - بائر) بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار (مرک، آلمان) و بر اساس دستورالعمل های CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) انجام پذیرفت. نتایج آنتی بیوگرام پس از ۲۴-۱۸ ساعت انکوباسیون در ۳۷ درجه سلسیوس با استفاده از جداول موسسه استاندار فوق قرائت گردید (۱۷). دیسک‌های پادزیستی مورد استفاده در این مطالعه که شامل جنتامیسین (10µg)، کانامایسین (30µg)، آمیکاسین (30µg)، نئومایسین (10µg)، نیتروفورانتوئین (300µg)، تتراسایکلین (30µg)، آمپی سیلین (10µg)، ایمی پنم (10µg)، سفتازیدیم (30µg)، تری متوپریم-

سولفامتوکسازول (25µg) و سیپروفلوکساسین (5µg) بود (شرکت Mastانگلیس).

استخراج DNA و PCR:

DNAتمام ایزوله‌های جمع‌آوری شده، با استفاده از AccuPrep® Genomic DNA Extraction Kit (Bioneer, Korea) بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده استخراج شد. به منظور تکثیر ژن *aac(3)-IIa*، واکنش PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر و شامل ۲/۵ میکرولیتر Buffer 10x، مخلوط dNTP ۰/۲ میلی مولار، $MgCl_2$ ۱/۵ میلی مولار، از هر پرایمر ۰/۴ میکرومولار، ۱۰۰ نانو گرم DNA الگو، *Taq* DNA Polymerase 1U و تا حجم ۲۵ میکرولیتر آب دیونیزه استریل بود (۱۸). مشخصات یک جفت پرایمر مورد استفاده در این مطالعه در جدول ۱ آورده شده است.

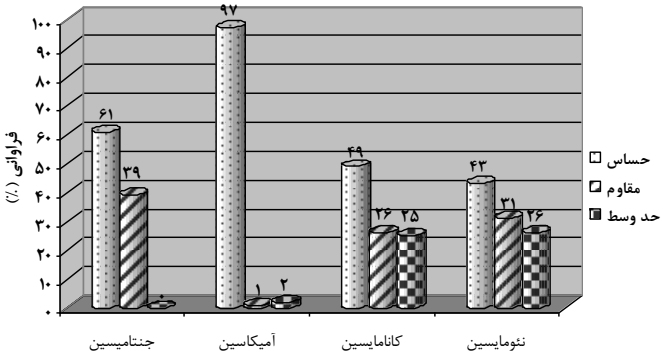
واکنش PCR برای تکثیر ژن مورد نظر در دستگاه ترمال سایکلر (BioRad, US) تحت شرایط ذیل بهینه گردید: باز شدن اولیه دو رشته (Initial Denaturation) در ۹۴ درجه سلسیوس به مدت ۵ دقیقه و سپس ۳۰ چرخه با باز شدن دو رشته (Denaturation) در ۹۴ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال پرایمرها (Annealing) در ۵۰ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ ثانیه، طویل شدن رشته‌ها (Extension) در ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۶۰ ثانیه و طویل شدن نهایی (Final extension) در ۷۲ درجه ساسیوس به مدت ۵ دقیقه (۱۸). در نهایت ۵ میکرولیتر از محصولات PCR با ۱ میکرولیتر بافر نمونه مخلوط و بر روی ژل آگارز ۱٪ به همراه نشانگر ۱۰۰ جفت بازی الکتروفورز و با ژل رد (شرکت طیف آرا) آشکارسازی گردید. به دلیل عدم دسترسی به سویه مرجع حاوی ژن مورد نظر (کنترل مثبت)، یک نمونه از محصولات PCR با نتایج مثبت، جهت تصدیق حضور ژن *aac(3)-IIa* تعیین توالی گردیده (Macrogen, Korea) و با توالی ژن aac*(3)-IIa* موجود در بانک ژنی NCBI (*Accession no*: X54723) با استفاده از نرم‌افزار Emboss Needle – Pairwise Sequence Alignment موجود درسایت EBI (European Bioinformatics Institute) مقایسه گردید. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS 16 به صورت درصد فراوانی و ارتباط بین فنوتیپ مقاومت به آمینوگلیکوزیدهای مورد آزمایش و حضور ژن *aac(3)-IIa* با آزمون Chi-squared مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. در تمامی موارد P value کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار تلقی گردید.

جدول ۱: مشخصات پرایمرهای مورد استفاده در شناسایی ژن *aac(3)-IIa*

Ref.	Amplicon Size (bp)	Primer Sequence	Gene
18	740	F: 5'- CGGAAGGCAATAACGGAG -3' R: 5'- TCGAACAGGTAGCAGAG - 3'	*aac(3)-IIa*

یافته‌ها

نتایج ارزیابی حساسیت میکربی ۱۰۰ ایزوله *اشریشیا کلی* یوروپاتوژن نسبت به آنتی بیوتیک های مورد آزمایش نشان داد که مقاومت به آمپی‌سیلین ۸۵٪ (بیش‌ترین مقاومت)، تری متوپریم - سولفامتوکسازول ۷۲٪، تتراسایکلین ۶۶٪، سیپروفلوکساسین ۵۵٪، سفتازیدیم ۲۰٪، نیتروفورانتوئین ۳٪ و ایمی پنم ۰٪ (فاقد مقاومت) می‌باشد. در بین آنتی بیوتیک های آمینوگلیکوزیدی، بیش‌ترین مقاومت به جنتامیسین (۳۹ ایزوله، ۳۹٪) و بیش‌ترین حساسیت به آمیکاسین (۹۷ ایزوله، ۹۷٪) دیده شد. همچنین بیش‌ترین فنوتیپ حد واسط نیز مربوط به نئومایسین (۲۶ ایزوله، ۲۶٪) بود (نمودار ۱). به طور کلی، در بین ایزوله‌های بررسی‌شده، ۶۰ ایزوله(۶۰٪)حداقل نسبت به یکی از آمینوگلیکوزیدهای مورد آزمایش مقاوم بودند؛ که در میان این ایزوله‌ها (۶۰ ایزوله)، یک ایزوله (۱/۶۶٪) به طور همزمان مقاوم به ۴ آمینوگلیکوزید (جنتامایسین، کانامایسین، نئومایسین و آمیکاسین)، سه ایزوله (۵٪) مقاوم به ۳ آمینوگلیکوزید (جنتامایسین، کانامایسین و نئومایسین)، ۲۸ ایزوله (۴۶/۶٪) مقاوم به ۲ آمینوگلیکوزید (جنتامایسین و کانامایسین) و در نهایت ۲۸ ایزوله (۴۶/۶٪) فقط به یکی از آمینوگلیکوزیدهای مورد آزمایش مقاوم بودند.



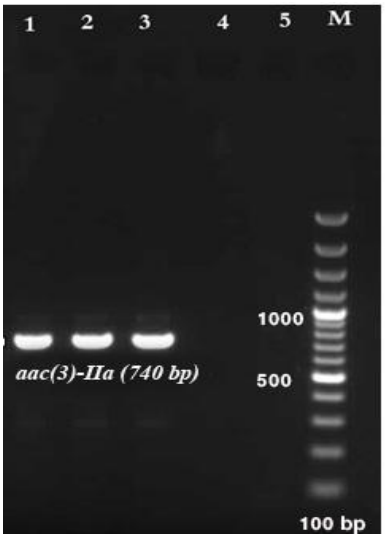
نمودار ۱: الگوی مقاومت به آمینوگلیکوزیدها در بین ۱۰۰ ایزوله اشریشیا کلی یوروپاتوژن جداشده از شهرستان دلفان به روش انتشار از دیسک

نتایج PCR و ارتباط الگوی فنوتیپی با حضور ژن *aac(3)-IIa*

نتایج الکتروفورز محصولات PCR در شرایط بهینه، حضور باند اختصاصی *aac(3)-IIa* را در مقایسه با مارکر نشان داد که کاملاً با طول ژن پیش‌بینی‌شده (۷۴۰ bp) مطابقت داشت (شکل ۱). همچنین نتایج تعیین توالی و مقایسه با توالی ثبت‌شده در بانک ژنی NCBI نیز حضور ژن *aac(3)-IIa* را اثبات کرده و همسانی (Similarity) ۹۶/۹٪ را نشان داد. نتایج نشان داد که ۴۴ ایزوله (۴۴٪) از کل ۱۰۰ ایزوله مورد آزمایش، ژن *aac(3)-IIa* را با خود حمل می‌کردند که در این میان، ۳۶ ایزوله (۹۲/۳٪) از بین ۳۹ ایزوله مقاوم به جنتامیسین، بیش‌ترین حضور ژن را به خود اختصاص دادند. به طور جالب‌توجهی ما یافتیم که در بین ۹۷ ایزوله حساس به آمیکاسین، ۴۳ ایزوله (۴۴/۳٪) دارای ژن *aac(3)-IIa* پودند. همچنین در بین ۲۵ ایزوله با فنوتیپ حد واسط به کانامایسین، ۲۰ ایزوله (۸۰٪) نیز ژن *aac(3)-IIa* را با خود حمل می‌کردند. نتایج فراوانی ژن *aac(3)-IIa* در بین الگوی های مختلف حساسیت میکربی به آمینوگلیکوزیدها در جدول ۲ خلاصه شده است.

بحث و نتیجه‌گیری

در راستای تعیین الگوی مقاومت ایزوله‌های *اشریشیا کلی* یوروپاتوژن، مطالعات وسیعی در جهان و مناطق مختلف ایران صورت گرفته است؛ از جمله Garcia و همکاران در سال ۲۰۰۶ در مکزیکوسیتی میزان مقاومت ۳۲۴ ایزوله *اشریشیا کلی*



شکل ۱ آگارز ژل الکتروفورز محصولات PCR ایزوله‌های ادراری اشریشیا کلی

ستون های ۳-۱ محصولات PCR سه ایزوله مختلف حاوی ژن aac(3)-IIa (۷۴۰bp) ستون های ۴ و ۵ محصولات PCR دو ایزوله‌های فاقد ژن مذکور (کنترل منفی)، M مارکر

جدول ۲: فراوانی ژن *aac(3)-IIa* در بین ۱۰۰ ایزوله اشریشیا کلی یوروپاتوژن با فنوتیپ مقاوم (R)، حد واسط (I) و حساس (S) به آنتی بیوتیک های آمینوگلیکوزیدی

	R	I	S	
کانامایسین	R n= ۲۶(%)	I n=۲۵ (%)	S n=۴۹ (%)	کل
	۱۳ (۵۰)	۲۰(۸۰)	۱۱(۲۲.۴)	۴۴
آمیکاسین	R n=۱(%)	I n=۲ (%)	S n=۹۷(%)	کل
	۰(۰)	۱(۵۰)	۴۳(۴۴.۳)	۴۴
نئومایسین	R n=۳۱(%)	I n=۲۶ (%)	S n= ۴۳ (%)	کل
	۱۳(۴۱.۹)	۱۳(۵۰)	۱۸ (۴۱.۹)	۴۴
جنتامایسین	R n=۳۹(%)	I n=۰ (%)	S n=۶۱ (%)	کل
	۳۶ (۹۲.۳)	۰(۰)	۸ (۱۳.۱۱)	۴۴

یوروپاتوژن به آمپی‌سیلین، تری متوپریم – سولفامتوکسازول و سیپروفلوکساسین را به ترتیب ۷۹٪، ۶۰٪ و ۲۴٪ گزارش کردند (۱). همچنین در ایران، در فاصله زمانی سال ۸۸-۱۳۸۷، Farahani و همکاران در مرکز تحقیقات ارتش، با بررسی ۲۷۵ *اشریشیا کلی* جداشده از مبتلایان به عفونت ادراری که اکثراً ارتشی پودند؛ بیش‌ترین مقاومت را نسبت به آمپی‌سیلین (۸۰/۷٪) و بیش‌ترین حساسیت را نسبت به نیتروفورانتوئین

(۹۴/۵٪) ثبت کردند (۱۹). Farshad و همکاران نیز، مقاومت به آمپی‌سیلین، تری متوپریم – سولفامتوکسازول، نیتروفورانتوئین و ایمی پنم را در بین ۹۰ ایزوله *اشریشیا کلی* یوروپاتوژن جمع آوری شده از بیمارستان مطهری جهرم را به ترتیب ۸۰/۲٪، ۷۶٪، ۳/۱٪ و ۰٪ ثبت کردند (۲۰). حساسیت بالا به ایمی پنم (۹۳٪) در سال ۲۰۰۵ به وسیله Gulsun و همکاران در ترکیه نیز گزارش شده است (۲۱). به طور قابل‌توجهی، نتایج به دست آمده از مطالعه ما در شهرستان دلفان نیز، بیش‌ترین مقاومت را به آمپی‌سیلین (۸۵٪)، تری متوپریم – سولفامتوکسازول (۷۲٪) و سیپروفلوکساسین (۵۵٪) و همچنین بیش‌ترین حساسیت را به ایمی پنم (۱۰۰٪) و نیتروفورانتوئین (۹۷٪) نشان داد که با نتایج مطالعات قبلی همخوانی دارد. به طور کلی، خط مشی سازمان بهداشت جهانی، استفاده از آمپی‌سیلین و تری متوپریم – سولفامتوکسازول به عنوان داروهای خط اول، در درمان UTIs غیر پیچیده (Uncomplicated) است (۲۰). با توجه به نتایج این مطالعه و مطالعات مشابه، به نظر می‌رسد که این دستورالعمل‌ها نیاز یه بازبینی داشته و حتی پیشنهاد می‌شود؛ برای هر منطقه داروهای خط اول درمان بر اساس مطالعات اپیدمیولوژیک صورت گرفته تدوین گردد. موثرترین عامل ضد میکربی که در این مطالعه مورد آزمایش قرار گرفت ایمی‌پنم بود که هیچ مورد مقاومی نسبت به آن مشاهده نشد که با نتایج مطالعات قبلی نیز مطابقت داشت؛ این کاهش مقاومت می‌تواند به دلیل محدود بودن مصرف این دارو در عفونت های بیمارستانی، عدم وجود شرایط لازم (تزریق وریدی) در درمان UTIs بیماران سرپایی، بالا بودن هزینه خرید دارو و یا شیوع پایین کارباپنمازها باشد؛ که اثبات این فرضیات نیازمند انجام مطالعات تکمیلی دیگری است. با این وجود، نباید از حضور این آنزیم ها (کارباپنمازها) در گونه‌های کلبسیلا و احتمال انتقال به سویه‌های *اشریشیا کلی* غافل بود. در مطالعه‌ای که ما بر روی مقاومت به پادزیست‌های آمینوگلیکوزیدی انجام دادیم؛ بیش‌ترین میزان مقاومت نسبت به جنتامیسین (۳۹٪) و کمترین مقاومت نسبت به آمیکاسین (۱٪) بود. در سال ۲۰۰۱ Moniri و همکاران در کاشان، با مطالعه ۲۲۰ ایزوله *اشریشیا کلی* جداشده از ادرار، مقاومت به جنتامیسین را ۱۹/۵٪ گزارش کرده‌اند (۲۲). طی مطالعه Japoni و همکاران (۲۰۰۸)، در ارتباط با ایزوله‌های بالینی *اشریشیا کلی* جداشده از ادرار و مدفوع از پنج بیمارستان در شیراز، نشان دادند که ۱۸٪ ایزوله‌ها نسبت به جنتامیسین و ۸/۵٪ ایزوله‌ها نسبت به آمیکاسین مقاوم‌اند (۲۳). با مقایسه نتایج حاصله از این دو مطالعه با مطالعه اخیر، با گذشت زمان مقاومت بیشتری نسبت به جنتامیسین و مقاومت کمتری نسبت به آمیکاسین را در مطالعه خود مشاهده می‌کنیم. طی مطالعه دیگری توسط Kong و همکاران در چین (۲۰۰۶)، که بر روی فنوتیپ مقاومت به آمینوگلیکوزیدها و ژنوتایپینگ استیل ترانسفرازها بر روی ۴۴ ایزوله بالینی *اشریشیا کلی* انجام گرفت، درصد مقاومت به جنتامیسین، توبرامایسین وآمیکاسین به ترتیب ۵۶/۸۲٪، ۶۱/۳۶٪ و ۱۸/۱۸٪ و همچنین ژن *aac(3)-II* به عنوان شایع‌ترین ژنوتایپ (۵۲/۲۷٪)، در ارتباط با فنوتیپ مقاومت به جنتامیسن و توبرامایسین گزارش گردید (۲۴). در مطالعه دیگری در چین (Xiang و همکاران) در طی سال های ۲۰۰۹-۲۰۰۸، بر روی ۲۰۵ ایزوله بالینی *اشریشیا کلی*، بیش‌ترین مقاومت به جنتامیسین (۹۵/۱٪) و کمترین مقاومت به آمیکاسین (۱۱/۷٪) و همچنین *aac(3)-II* فراوان‌ترین ژن (۷۹٪) در بین آنزیم های تغییردهنده آمینوگلیکوزیدها بود (۲۵). تنها مطالعه مستند بر روی ژن‌های AMEs اشریشیا *کلی* در ایران، مربوط به Solymani و همکاران (۱۳۸۸) بر روی ۲۵۰ ایزوله *اشریشیا کلی* یوروپاتوژن در تهران بوده است؛ برخلاف نتایج مطالعه ما، مقاومت به توبرامایسین، کانامایسین، جنتامیسین، نتیل مایسین و آمیکاسین به ترتیب ۹۶٪، ۹۰٪، ۸۲٪، ۳۰٪، ۸٪ و فراوانی ژن *aac(3)-IIa* ۵۴/۸۳٪ گزارش شده است. همچنین در این مطالعه حضور این ژن با فنوتیپ مقاومت به جنتامیسین و توبرامایسین مرتبط بود (۲۶). به طور مشابهی در مطالعه ما نیز مهم‌ترین عامل مقاومت به آمینوگلیکوزیدها نسبت به سایر ژن‌ها (داده‌ها منتشر نشده است. مربوط به آنزیم کد شونده توسط ژن *aac(3)-IIa* بود که از ۴۴٪ ایزوله به دست آمد. با توجه به اینکه، ۹۲/۳٪ ایزوله‌های مقاوم به جنتامیسین حامل ژن مذکور بودند (جدول ۲)؛ لذا همانند مطالعه Kong، Solymani و همکاران، ارتباط بین فنوتیپ مقاومت به جنتامایسین و حضور ژن *aac(3)-IIa* *نیز* در مطالعه ما از نظر آماری معنا داری بود ($P<0.05$). از جمله دلایل تفاوت در فراوانی مقاومت به برخی از آمینوگلیکوزیدها در مطالعات فوق نسبت به مطالعه ما می‌تواند تفاوت در نوع ایزوله ها (ادراری، بالینی)، توزیع متنوع ژن‌های مقاومت در نواحی مختلف جغرافیایی و الگوی تجویز و مصرف پادزیست ها باشد. اگرچه به دلیل استفاده بیشتر و در دسترس بودن جنتامایسین، مقاومت به آن در بسیاری از مناطق از جمله شهرستان دلفان از سایر

آمینوگلیکوزیدها بیشتر و برخلاف آن مقاومت به آمیکاسین کمتراست ولی به طور کلی توزیع فراوانی مقاومت به این داروهای کارآمد و ارزان از منطقه‌ای به منطقه دیگر متفاوت بوده و این امر لزوم انجام تست های حساسیت میکروبی قبل از شروع درمان را گوشزد می‌کند.

نتایج نشان داد که مقاومت به بسیاری از داروهایی رایج در درمان عفونت های ادراری از جمله برخی از آمینوگلیکوزیدها در شهرستان دلفان بالاست. لذا، در موارد درمان تجربی UTIs، استفاده از داروهایی چون نیتروفورانتوئین، آمیکاسین و ایمی پنم در کنار سایر فاکتورها می‌تواند در ریشه‌کنی عفونت مفید باشد. بعلاوه، به دلیل شیوع نسبتاً بالای ژن *aac(3)-II* در بین ایزوله‌های *اشریشیا کلی* یوروپاتوژن منطقه، احتمال افزایش مقاومت به آنتی بیوتیک های مفیدی چون جنتامیسین، توبرامایسین و غیره در سال های آتی وجود دارد؛ بنابراین، پایش دوره‌ای مقاومت‌ها توصیه می‌گردد.

تشکر و قدردانی

این مطالعه با هزینه و همکاری معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی لرستان انجام پذیرفته است؛ لذا صمیمانه از زحمات آن معاونت و کلیه کارشناسان و همکاران پژوهشی دانشگاه تقدیر و تشکر بعمل‌آید.

References

1. Garcia JLA, Becerril SD, Santos FS, Sosa AA, Jimenez RC, *et al*. Resistance of uropathogenic bacteria to first-line antibiotics in mexico city. *Excerpta medica* 2007; 68(2):120-6.
2. Johnson JR. Virulence factors in *Escherichia coli* urinary tract infection. *Clin Microbiol Rev* 1991; 4(1): 80-128.
3. Foxman B. Epidemiology of urinary tract infections: incidence, morbidity and economic costs. *Dis Mon* 2003; 49(2): 53-70.
4. Wagenlehner FME, Naber KG. Antibiotics and resistance of uropathogens. *EAU update serie* 2004; 2:125-35.
5. Sutcliffe JA. Improving on nature: antibiotics that target the ribosome. *Curr Opin Microbiol* 2005; 8(5):534-42.
6. Chandrakanth RK, Raju S, Patil SA. Aminoglycoside-resistance mechanisms in multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* clinical isolates. *Curr Microbiol* 2008; 56(6): 558-62.
7. Zembower TR, Noskin GA, Postelnick MJ, Nguyen C, Peterson LR. The utility of aminoglycoside in an era of emerging drug resistance. *Int J Antimicrob Agent* 1998; 10(2):95-105.
8. Vakulenko SB, Mobashery S. Versatility of aminoglycosides and prospects for their future. *Clin Microbiol Rev* 2003; 16(3): 430-50.
9. Mingeot-Leclereq MP, Glupczynski Y, Tulkens P. Aminoglycosides: activity and resistance. *Antimicrob Agent Chemother* 1999; 43(3): 727-37.
10. Hooper DC. Target modification as a mechanism of antimicrobial resistance. In: Lewis K, Salyers AA, Taber HW, & Wax RG, ed. *Bacterial resistance to antimicrobials*. New York; Marcel Dekker. 2002; PP: 161–92.
11. Brown NM, Reeves DS. Mechanisms and epidemiology of aminoglycoside resistance. *J Med Microbiol* 1992; 36:11-14.
12. Show KJ, Rather PN, Hare RS, Miller GH. Molecular genetics of aminoglycoside resistance genes and familial relationships of the aminoglycoside-modifying enzymes. *Microbiol Rev* 1993; 57(1):138-63.
13. Miller G, Jessen F. The most frequent aminoglycoside resistance mechanisms changes with time and geographic area: a reflection of aminoglycoside usage patterns. *Clin Infect Dis* 1997; 24: 46-62.
14. Rather PN. Origins of the aminoglycoside modifying enzymes. *Drug Resist Updat* 1998; 1(5):285-91.
15. Ounissi H, Derlot E, Carlier C, Courvalin P. Gene homogeneity for aminoglycoside-modifying enzymes in gram-positive cocci. *J Antimicrob Agent Chemother* 1990; 34(11):2164-8.
16. Winn WC, Allen SD, Janda WM, Koneman EW, Woods GL. *Koneman's color atlas and textbook of diagnostic microbiology*. 6th ed. Baltimore; Lippincott Williams & Wilkins. 2006; PP: 211-38.
17. Clinical and laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; *M100-S20. CLSI document* 2010; 30(1): 27-44.
18. Maynard C, Bekal S, Sanschagrin F, Levesque RC, Brousseau R, *et al*. Heterogeneity among Virulence and Antimicrobial Resistance Gene

Profiles of Extraintestinal Escherichia coli Isolates of Animal and Human Origin. *J Clin Microbiol* 2004; 42(12): 5444-52.

19. Farahani H, Tajik A, Noorifard M, Keshavarz A, Taghipour N, Hossieni-Shokouh J. Antibiotic resistance pattern of *E.coli* isolated from urine culture in 660 Army clinical laboratory center in Tehran 2008. HBI_Journals. 2012;10(1):45-9.
20. Farshad S, Anvarinejad M, Mehrabi Tavana A, Ranjbar R, Japoni A, *et al.* Molecular epidemiology of *Escherichia coli* strains isolated from children with community acquired urinary tract infections. *Afr J Microb Res* 2011; 5(26): 4476-83.
21. Gulsun S, Oguzoglu N, Inan A, Ceran N. The virulence factors and antibiotics sensitivities of *Escherichia coli* isolated from recurrent urinary tract infections. *Saudi Med J* 2005; 26 (11):1755-8.
22. Moniri R, Khorshidi A, Akbari H. Emergence of multidruge resistant strains of *Escherchia coli* Isolated from Urinary Ttact Infections. *Iranian J publ Health* 2003; 4 (32):42-6.
23. Japoni A, Goudarzi M, Farshad Sh, Basiri E, Ziyaeyan M, *et al*. Assay for integrons and pattern of antibiotic resistance in clinical *Escherichia coli* strains by PCR-RFLP in southern Iran. *Jpn J Infect Dis* 2008; 61(1):85-8.
24. Kong HS, Li XF, Wang JF, Wu MJ, Chen X, *et al*. Evaluation of aminoglycoside resistance phenotype and genotyping of acetyltransferase in *Escherichia coli*. *Zhongguo Yao Li Xue Bao* 2006; 35(1): 83-6.
25. Xiao Y, Hu Y. The Major Aminoglycoside-Modifying Enzyme AAC(3)-II Found in *Escherichia coli* Determines a Significant Disparity in Its Resistance to Gentamicin and Amikacin in China. *Microb Drug Resis* 2012; 18(1):42-6.
26. Soleimani N, Sattari M, Broumand MA, Seresh SS. A molecular study of aac(3) – IIa(aacC2) gene in aminoglycoside resistant Escherichia coli isolated from urine. 2010; 3(13): 23-30