Neda Soleimani*

Assistant Professor, Department of Microbiology and Microbial Biotechnology, Faculty of Life Sciences and Biotechnology, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran.

Molecular Biology of Aminoglycoside and Relationship of Aminoglycoside Modifying Enzymes with Altering Resistance

Received:1 Jan. 2017 ; Accepted: 11 Jul. 2017

Abstract

The clinical significance of aminoglycosides is due to effect of gram-negative bacteria, *staphylococcus aureus* and some *streptococcus*. It is most application in the treatment of infections caused by facultative aerobic gram-negative bacilli. Combination of an aminoglycoside with beta-lactam or glycopeptide has synergistic effect on sensitive bacteria and can be effective in the treatment. Today, some bacteria have multiple resistances to some antibiotics, including aminoglycosides. Acquired resistance to aminoglycosides in Gram-negative bacteria and gram-positive bacteria have been reported. Three resistance mechanisms involve a change in the position of the ribosomal binding of drugs, decreasing drug permeability and enzymatic drug inactivation. So, Identification of resistance mechanisms and find new functional groups is important in reducing resistance.

Keywords: Aminoglycoside, antibiotic resistant, gene.

***Corresponding Author:**
Assistant Professor, Department of Microbiology and Microbial Biotechnology, Faculty of Life Sciences and Biotechnology, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran.

Tel: 021-29905516
E-mail: N_soleimani@sbu.ac.ir

Archive of SID

www.SID.ir

بیولوژی مولکولی آمینوگلیکوزیدها و ارتباط ژن‌های آنزیم‌های تغییردهنده آمینوگلیکوزیدی با بروز مقاومت

ندا سلیمانی*

استادیار، دکتری تخصصی باکتری شناسی پزشکی، گروه میکروبیولوژی و زیست فناوری میکروبی، دانشکده علوم و فناوری زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

تاریخ دریافت مقاله:۱۳۹۵/۱۰/۱۲ ؛ تاریخ پذیرش:۱۳۹۶/۴/۲۰

چکیده

اهمیت بالینی آمینوگلیکوزیدها از آن جهت است که علیه طیف وسیعی از باکتری‌های هوازی خصوصاً باکتری‌های گرم منفی، بسیاری از استافیلوکوک‌ها و برخی استرپتوکوک‌ها مؤثر می‌باشند و بیشترین کاربرد را در درمان عفونت‌های ناشی از باسیل‌های گرم منفی هوازی و بی‌هوازی اختیاری نشان می‌دهند. ترکیب یک آمینوگلیکوزید با یک عامل ضد دیواره مانند بتالاکتام و یا گلیکوپپتیدها ایجاد اثر سینرژیستی روی ایزوله‌های حساس نموده و می‌تواند در درمان عفونت‌ها مؤثر باشد. امروزه باکتری‌ها، مقاومت چندگانه‌ای را نسبت به برخی از آنتی‌بیوتیک‌ها ازجمله آمینوگلیکوزیدها نشان می‌دهند. مقاومت اکتسابی به آمینوگلیکوزیدها هم در باکتری‌های گرم منفی و هم در باکتری‌های گرم مثبت گزارش‌شده است. سه مکانیسم مقاومت شامل تغییر در جایگاه ریبوزومی اتصال دارو، کاهش در نفوذپذیری دارو و غیر فعال‌سازی آنزیماتیک دارو، مسئول مقاومت به آمینوگلیکوزیدها می‌باشند. بنابراین، شناسایی مکانیسم مقاومت آن و یافتن گروه‌های عاملی جدید در کاهش مقاومت حائز اهمیت می‌باشد.

کلمات کلیدی: آمینوگلیکوزید، مقاومت آنتی بیوتیکی، ژن.

***نویسنده مسئول:**
استادیار، دکتری تخصصی باکتری شناسی پزشکی، گروه میکروبیولوژی و زیست فناوری میکروبی، دانشکده علوم و فناوری زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران
۰۲۱-۲۹۹۰۵۵۱۶
E-mail: N_Soleimani@sbu.ac.ir

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

آمینوگلیکوزیدها خانواده‌ای از عوامل آنتی باکتریال هستند که بااتصال به 30s ریبوزوم مانع از سنتز پروتئین‌سازی می‌گردند. آمینوگلیکوزیدهای اولیه محصولات طبیعی گروه بزرگی از باکتری‌های خاک به نام اکتینومیست‌ها، مخصوصاً گونه‌های دو جنس استرپتومایسس و میکرومونوسپورا می‌باشند که دارای بار مثبت بوده و حاوی چندین گروه آمینو در ساختار گلیکوزیدی‌شان هستند.[۱-۵] اهمیت بالینی این خانواده آنتی‌بیوتیکی ازآن‌جهت است که علیه طیف وسیعی از باکتری‌های هوازی خصوصاً باکتری‌های گرم منفی، بسیاری از استافیلوکوک‌ها و برخی استرپتوکوک‌ها مؤثر می‌باشند و بیشترین کاربرد را در درمان عفونت‌های ناشی از باسیل-های گرم منفی هوازی و بی‌هوازی اختیاری نشان می‌دهند. ترکیب یک آمینوگلیکوزید با یک عامل ضد دیواره مانند بتالاکتام و یا گلیکوپپتیدها ایجاد اثر سینرژیستی روی جدایه‌های حساس نموده و می‌تواند در درمان عفونت‌ها مؤثر باشد. مقاومت اکتسابی به آمینوگلیکوزیدها هم در باکتری‌های گرم منفی و هم در باکتری‌های گرم مثبت گزارش‌شده است. سه مکانیسم مقاومت شامل تغییر در جایگاه ریبوزومی اتصال دارو، کاهش در نفوذپذیری دارو و غیر فعال‌سازی آنزیماتیک دارو، مسئول مقاومت به آمینوگلیکوزیدها می‌باشند.[۷و۸] از این بین غیر فعال‌سازی آنزیماتیک آمینوگلیکوزیدها توسط آنزیم‌های تغییردهنده‌ی آن‌ها، اصلی‌ترین مکانیسم مقاومت به این داروها در باکتری‌ها می‌باشد. سویه‌های مقاوم توانایی تغییر در ساختار بیوشیمیایی آمینوگلیکوزیدها را توسط آنزیم‌های تغییردهنده آمینوگلیکوزیدها (Aminoglycosides Modifying Enzymes: AMEs) را دارا هستند. گزارش‌های بسیاری از AMEهای گوناگون در سراسر دنیا وجود دارند. توسعه مقاومت آنتی‌بیوتیکی خصوصاً مقاومت به آمینوگلیکوزیدهائی که باواسطه پلاسمید عمل می‌کنند سریعاً باعث انتقال ژن مقاومت به سایر باکتری‌ها ازجمله باکتری‌های گرم منفی گردیده و ارگانیزم‌ها را نسبت به درمان مقاوم می‌کند.[۹،۱۰]

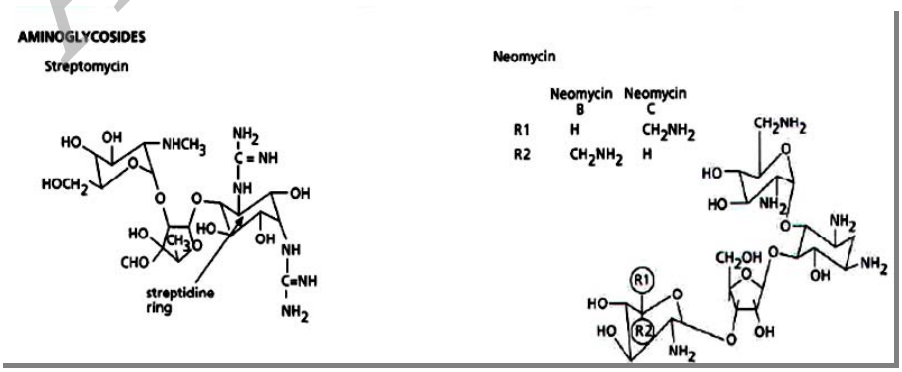
ساختار مولکولی آمینوگلیکوزیدها

آمینوگلیکوزیدها، ترکیبی از گروه‌های آمینو و گروه‌های قندی می‌باشند. این آنتی‌بیوتیک‌ها دارای یک حلقه شش عضوی آمینوسیکلیتول می‌باشند که به این حلقه گروه‌های آمینو و هیدروکسیل متصل است.[۱۱] این آنتی‌بیوتیک‌ها باکتریوسیدال بوده و برحسب حلقه آمینوسیکلیتول، به دو گروه کلی تقسیم می‌شوند:

۱- آمینوگلیکوزیدهایی که حلقه آمینوسیکلیتول آن‌ها، استرپتیدین می‌باشد مانند استرپتومایسین و دی هیدرو استرپتومایسین.

۲- آمینوگلیکوزیدهایی که حلقه آمینوسیکلیتول آن‌ها ، داکسی استرپتامین می‌باشد. در اغلب آمینوگلیکوزیدهایی که مورداستفاده بالینی دارند، حلقه ۲-داکسی استرپتامین در موقعیت‌های ۶ و ۴ (جنتامیسین، توبرامایسین، آمیکاسین و نتیل‌مایسین) و یا ۵ و ۴ (پاراموماسین، ریبوستامایسین و نئومایسین) توسط گروه‌های مختلفی چون آمینوهگزوزها و پنتوزها جایگزین می‌شود.[۱۲،۱و۱۳]

درشکل ۱ تفاوت ساختاری بین دودسته فوق مشخص‌شده است.



شکل ۱: تفاوت ساختاری آمینوگلیکوزیدها

Archive of SID
www.SID.ir

شماره‌گذاری مراکز کربن برای نام‌گذاری آنزیم‌های تغییردهنده به این شکل است که حلقه آمینوسیکلیتول پسوندی نمی‌گیرد و حلقه‌های اضافی دیگر با علامت (′) و (″) و الی‌آخر مشخص می‌شوند. حضور فراوان گروه‌های آمینو موجب می‌شود که بار کلی این ترکیبات در pH فیزیولوژیک مثبت شود که این امر خود باعث حلالیت شدید آن‌ها در آب‌شده و هنگامی‌که از طریق خوراکی مصرف شوند به‌طور ضعیف در دسترس سلول‌ها قرار می‌گیرند.[۳۷،۱۵،۱۴و۳۹] کانامایسین توسط استرپتومایسز کانامایستیکوس تولید می‌شود و از سه بخش تشکیل‌شده است (۹۸٪ A و ۲٪ باقیمانده از B و C). جنتامیسین C نیز از سه بخش متفاوت ولی مرتبط آمینوگلیکوزید سولفات شامل C1 ۴۰٪، C2 ۴۰٪ و C1a ۲۰٪ تشکیل‌شده است.جنتامیسین B به‌عنوان یک ترکیب کوچک و به میزان کم هم‌زمان با مجموعه جنتامیسین C طی عمل تخمیر توسط میکرومونوسپورا پورپورا تولید می‌شود و مشتق نیمه سنتتیک آن یعنی ایزپامایسین طیف فعالیت مشابه آمیکاسین دارد. اسپکتینومایسین علیرغم این‌که اغلب به‌عنوان یک آمینوگلیکوزید در نظر گرفته می‌شود، فاقد یک قند آمینو می‌باشد. تغییرات اختصاصی در ساختار آمینوگلیکوزیدهای نیمه سنتتیک جدیدتر به‌منظور کاهش آسیب‌پذیری در مقابل آنزیم‌های تغییردهنده آمینوگلیکوزید و یا افزایش فعالیتشان اعمال می‌شود.[۱۱و۱۲و۱۴]

خصوصیات فارماکودینامیک و فارماکوکینتیک آمینوگلیکوزیدها

این آنتی‌بیوتیک‌ها به میزان کمی از دستگاه گوارش جذب‌شده و به‌طور ضعیف از سد خونی-مغزی عبور می‌کنند. علاوه بر این نفوذپذیری آن‌ها به درون ترشحات برونشی، مایع پروستاتیک، بزاق، صفرا و مایع زجاجیه کم می‌باشد. آمینوگلیکوزیدها در غلظت‌های بالا در مایع سینوویال، استخوان و مایع پریتوئن تجمع می‌یابند. همچنین در غلظت‌های بسیار بالا در ادرار (به‌طور مشخص ۱۰۰-۲۵ برابر بیشتر از سطح سرمی) ظاهر می‌شوند. در برخی از ارگانیسم‌ها دارای اثر هم‌افزایی با آنتی‌بیوتیک‌هایی نظیر بتالاکتام‌ها می‌باشند، هرچند اثر آنتاگونیسمی هم مشاهده‌شده است.[۱۱و۱۰،۴،۳] آمینوگلیکوزیدها دارای اثری به نام اثر پس‌ازآنتی‌بیوتیک یا PAE می‌باشند. PAE مهار طولانی رشد باکتری است که به مدت ۸-۴ ساعت پس از مواجه‌شدن ارگانیسم‌هایی چون استافیلوکوکوس اورئوس، کلبسیلا پنومونیه و سودوموناس آئروژینوزا با آنتی‌بیوتیک، پایدار می‌ماند. تجویز دوزهای بالای متناوب که سطوح بالایی از دارو ایجاد می‌کند و به دنبال آن اثر PAE، باعث حفظ کارآیی دارو زمانی که سطوح سرمی آن پائین تر از سطح حداقل غلظت مهارکننده یا MIC باشد می‌شود. اهمیت چنین پدیده‌ای همچنان بحث‌برانگیز باقی‌مانده است زیرا تغییرات قابل‌توجهی در مدت‌زمان این اثر از ارگانیسمی به ارگانیسم دیگر و حتی درون یک جنس و گونه مشابه دیده می‌شود.[۱۲و۱۳] آنتی‌بیوتیک‌های آمینوگلیکوزیدی ریبوزوم باکتریایی را مورد هدف قرار داده و در مرحله ترجمه‌ی پروتئین‌ها اختلال ایجاد می‌کنند. برخلاف دیگر آنتی‌بیوتیک‌های متوقف کننده فرآیند ترجمه همچون تتراسیکلین‌ها و کلرامفنیکل که باکتریواستات هستند، اغلب آمینوگلیکوزیدها باکتریسیدال هستند و فعالیت کشندگی آن‌ها به دلیل میل به ایجاد خطا در هنگام خواندن نسخه mRNA (Misreading of the mRNA transcript) است که این عمل منجر به تولید پروتئین‌های ناقص می‌شود.[۱۴و۱۵] قیمت و هزینه کم، وسیع الطیف بودن و فعالیت باکتریسیدالی سریع ازجمله مزیت‌های این گروه از آنتی‌بیوتیک‌ها می‌باشد.[۱۶و۱۷]

خصوصیات فارماکولوژیک آمینوگلیکوزیدها

آمینوگلیکوزیدها شدیداً در آب محلول‌اند و قدرت انحلال کمی در چربی‌ها دارند. در محیط قلیایی دارای فعالیت ضد باکتریایی بیشتری نسبت به محیط اسیدی می‌باشند. از راه دهانی جذب اندکی دارند، به همین دلیل بهتر است از طریق داخل ماهیچه‌ای یا داخل رگی تجویز شوند. این آنتی‌بیوتیک‌ها توانایی نفوذ به داخل سلول و سد خونی- مغزی را ندارند. دفع آن‌ها عمدتاً از طریق ادرار می‌باشد و نیمه‌عمر آن‌ها حدود ۲ تا ۴ ساعت است. علیرغم این‌که آمینوگلیکوزیدها آنتی‌بیوتیک‌هایی با فعالیت ضدمیکروبی چندگانه می‌باشند ولی دارای اثرات جانبی سمی نیز می‌باشند. شایع‌ترین اثرات جانبی آن سمیت کلیوی و سمیت شنوایی می‌باشد. سمیت کلیوی وابسته به دوز بوده و به‌طورکلی در اکثریت بیماران با قطع مصرف دارو قابل‌برگشت است. سمیت شنوایی معمولاً

Archive of SID
www.SID.ir

غیرقابل‌برگشت بوده و می‌تواند برای همیشه باعث از دست رفتن قدرت شنوایی شود. آمینوگلیکوزیدها همچنین ممکن است سبب ایجاد اثر جانبی غیرمعمول انسداد عصبی عضلانی شوند که با ممانعت از آزادسازی استیل کولین ایجاد می‌شود. دیگر عوارض جانبی آمینوگلیکوزیدها شامل سرگیجه، حالت تهوع و نوریت محیطی می‌باشد. جهت کاهش اثرات سمی این آنتی‌بیوتیک‌ها بایستی سطوح آمینوگلیکوزیدها به‌طور مناسب کنترل شود، به‌خصوص زمانی که این عوامل بایستی برای بیش از سه روز مصرف شوند.[۱-۹]

اهمیت بالینی و طیف فعالیت آمینوگلیکوزیدها

آمینوگلیکوزیدها دارای طیف ضد باکتریایی گسترده‌ای می‌باشند و بیشترین کاربرد را در درمان عفونت‌های باسیل‌های گرم منفی هوازی و اختیاری ازجمله *اشریشیاکلی* دارند. همین‌طور آمینوگلیکوزیدها در درمان عفونت‌های *مایکوباکتریوم توبرکلوزیس* نیز مؤثر واقع می‌شوند. این خانواده آنتی‌بیوتیکی به‌طورکلی از فعالیت کمی برضد باکتری‌های گرم مثبت به‌ویژه استرپتوکوک‌ها، انتروکوک‌ها به دلیل دیواره سلولی که به‌عنوان یک سد در مقابل نفوذپذیری دارو عمل می‌کند برخوردارند. علیرغم این، *استافیلوکوکوس او رئوس* و *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* به آمینوگلیکوزیدها حساس‌اند هرچند درصد بالایی از سویه‌های مقاوم در بعضی از مؤسسات گزارش‌شده است. بنابراین کاربرد بالینی این آنتی‌بیوتیک‌ها در درمان عفونت‌های باکتری‌های گرم مثبت به‌طورکلی محدود به ترکیبات سینرژیسمی آن‌ها با دیگر عوامل ضدمیکروبی می‌باشد. اکثر باکتری‌های روده‌ای و سودوموناس آئروژینوزا نسبت به جنتامیسین، توبرامایسین، نتیل‌میسین و آمیکاسین حساس‌اند. جنتامیسین و توبرامایسین دارای الگوهای فعالیت ضد باکتریایی مشابه هستند. لازم به ذکر است که جنتامیسین دارای فعالیت نسبتاً بیشتری علیه اشریشیا کلی و گونه‌های سراشیا می‌باشد درحالی‌که توبرامایسین علیه *سودوموناس آئروژینوزا* فعال‌تر است. سویه‌های مقاوم به جنتامیسین و توبرامایسین ممکن است همچنان نسبت به آمیکاسین حساس باقی بمانند.[۱-۴، ۹و۱۰]

مکانیسم عمل ضد باکتریایی

آمینوگلیکوزیدها ترکیبات بازی، شدیداً قطبی و با بار مثبت هستند لذا توانایی اتصال به واحدهای با بار منفی نظیر لیپوپلی‌ساکاریدها و فسفولیپیدهای غشاء خارجی باکتری‌های گرم منفی و بسیاری از مولکول‌های آنیونی داخل سلولی نظیر DNA را دارند.[۱۷] در باکتری‌های گرم مثبت فسفولیپیدها و اسیدهای تئیکوئیک به‌عنوان جایگاه‌های اولیه جهت اتصال عمل می‌کنند. این مرحله یک پروسه‌ی غیر وابسته به انرژی است. این داروها سپس از طریق فرآیند انتشار و پروتئین‌های پورین غشای خارجی وارد فضای پری پلاسمی می‌شوند.[۱۸] انتقال و عبور آمینوگلیکوزیدها از ورای غشای سیتوپلاسمی (غشای داخلی) نیازمند انرژی متابولیکی است که توسط سیستم انتقال الکترون در یک پروسه‌ی وابسته به اکسیژن تأمین می‌شود. این فاز از انتقال، فاز وابسته به انرژی نامیده می‌شود. این فاز دارای محدودیت سرعت است و توسط کاتیون‌های دو ظرفیتی (Mg^{2+} و Ca^{2+})، فشار اسمزی بالا، pH پائین و شرایط بی‌هوازی متوقف و یا مهار می‌شود. تولید انرژی اکسیداتیو که برای انتقال موردنیاز است بیانگر این نکته است که چرا آمینوگلیکوزیدها در محیط بی‌هوازی فعالیت بسیار کمتری دارند.[۱۹و۲۰] در داخل سیتوزول آمینوگلیکوزیدها با مولکول 16S rRNA از زیر واحد ۳۰S ریبوزوم طی یک مرحله وابسته به انرژی به نام فاز وابسته به انرژی واکنش داده و اساس تداخل عمل را فراهم می‌کند. آمینوگلیکوزیدها به‌طور اختصاصی به محل تشخیص کدون-آنتی‌کدون در جایگاه A متصل می‌شوند.[۲۱و۲۲] اتصال آمینوگلیکوزیدها به آدنین، موجب جابجایی این نوکلئوتید در داخل جایگاه A به شکل ساختار فضایی خاصی می‌شود به‌گونه‌ای که قدرت واکنش با جفت‌های کدون آنتی‌کدون ناجور را پیدا می‌کنند. این آنتی‌بیوتیک‌ها باعث بروز خطا در فرآیند ترجمه‌شده و این کد خوانی اشتباه منجر به تولید پروتئین‌های ناقص و درنهایت مرگ سلول می‌شود.[۲۳و۲۴] همچنین بعضی از آمینوگلیکوزیدها به زیر واحد ریبوزومی ۵۰S نیز متصل می‌شوند. این اتصال از تشکیل مجموعه شروع سنتز پروتئین (اتصال mRNA، formyl-Met-RNA و همکاری زیر واحد ۵۰S) جلوگیری نمی‌کند اما در مرحله‌ی طویل سازی زنجیره در حال تشکیل به‌وسیله‌ی اختلال در پروسه‌ی

Archive of SID
www.SID.ir

کنترل صحت ترجمه، خلل ایجاد می‌کند. آمینوگلیکوزیدها همچنین اصطلاحاً میزان صحت اتصال RNA پیامبر را کاهش می‌دهند و باعث ورود اسیدهای آمینه نادرست به زنجیره پلی پپتیدی در حال رشد می‌شوند. پروتئین‌های ناقصی که به‌این‌ترتیب حاصل می‌شوند ممکن است به درون غشاء سلولی واردشده و نفوذپذیری آن را تغییر داده و درنهایت منجر به تحریک بیشتر انتقال آمینوگلیکوزیدها از ورای غشاء شوند.[۲۷-۲۵] علاوه بر این‌ها مشاهده‌شده است که آمینوگلیکوزیدها می‌توانند به‌وسیله‌ی از دست دادن یون‌هایی چون پتاسیم (K^+) از سلول باعث آسیب به غشاء سلولی شوند. همین‌طور این آنتی‌بیوتیک‌ها با جایگزینی یون‌های کلسیم و منیزیوم در دیواره سلولی باکتری، سبب ازهم‌پاشیدگی نفوذپذیری دیواره سلولی شده و موجب مرگ سلول باکتریایی می‌شوند.[۲۸]

همه آمینوگلیکوزیدهایی که استفاده بالینی دارند در غلظت‌های درمانی معمولشان (کمتر از ۲۵ میکروگرم در میلی‌لیتر) مهارکننده‌های سنتز پروتئین‌های پروکاریوتی هستند، این آنتی‌بیوتیک‌ها ممکن است در غلظت‌های بالاتر سنتز پروتئین‌های سلول‌های پستانداران را تحت تأثیر قرار دهند که این عمل را بااتصال غیراختصاصی به ریبوزوم‌ها و یا اسیدهای نوکلئیک یوکاریوتی انجام می‌دهند.[۲۸-۲۶]

مقاومت نسبت به آمینوگلیکوزیدها

به‌طورکلی مکانیسم‌های مقاومت نسبت به آمینوگلیکوزیدها به دو صورت مکانیسم مقاومت ذاتی و مکانیسم مقاومت اکتسابی مشاهده می‌شود.[۲۹و۳۰]

۱. مقاومت ذاتی

اثر آمینوگلیکوزیدها مستقیماً بستگی به میزان دارویی دارد که می‌تواند در داخل باکتری انباشته شود. برخلاف بتالاکتام‌ها که اثر آن‌ها بیشتر بستگی به‌سرعت رشد باکتری دارد، انتقال آمینوگلیکوزیدها در عرض غشای سیتوپلاسمی، توسط حامل ویژه-ای صورت می‌گیرد که به‌وسیله‌ی نیروی محرکه پروتونی(PMF) تولید می‌شود.[۳۱] باکتری‌هایی که قدرت PMF آن‌ها ضعیف باشد و یا قادر به تولید PMF نباشند، به‌طور طبیعی به آمینوگلیکوزیدها مقاوم می‌باشند. در باکتری‌های بی‌هوازی PMF ضعیف بوده و در باکتری‌های تخمیرکننده‌ی مطلق (نظیر استرپتوکوک‌ها) که PMF تولید نمی‌شود، آمینوگلیکوزیدها قدرت ورود به داخل سلول را نداشته و درنتیجه باکتری نسبت به آمینوگلیکوزیدها مقاوم می‌باشد. ازاین‌جهت عفونت‌های حاصل از باکتری‌های بی‌هوازی و یا استرپتوکک‌ها را نمی‌توان به‌خوبی توسط آمینوگلیکوزیدها درمان نمود.[۲۹و۳۰]

۲. مقاومت اکتسابی

امروزه بروز و ظهور مقاومت نسبت به آمینوگلیکوزیدها تأثیر عمیقی در کاربرد بالینی‌شان داشته است. به‌طورکلی مقاومت به آمینوگلیکوزیدها به سه روش ایجاد می‌شود که عبارتند از: ۱. تغییر اهداف دارو، شامل RNAهای ریبوزومی و پروتئین‌های ریبوزومی، ۲. تغییر در انتقال آمینوگلیکوزیدها (ورود و دفع) یا به‌عبارت‌دیگر کاهش در جذب و غلظت داخل سلولی آنتی‌بیوتیک، ۳. غیرفعال‌سازی آنزیماتیک دارو به‌وسیله‌ی تولید آنزیم‌های تغییردهنده آمینوگلیکوزید. از میان این سه مکانیسم مقاومت، غیر فعال‌سازی آمینوگلیکوزیدها توسط آنزیم‌های تغییردهنده، شایع‌ترین مکانیسم در بین اغلب ایزوله‌های بالینی مقاوم می‌باشد ولی امروزه مکانیسم‌های دیگر نیز در حال ظهور بوده و اهمیت‌شان افزایش یافته است.[۱۷،۱۹و۲۲] مقاومت اکتسابی برعلیه آمینوگلیکوزیدها غالباً به دلیل وجود نوعی پلاسمید (فاکتور R) می‌باشد. پلاسمید مزبور آنزیمی را کد می‌کند که بااتصال به یک گروه استیل، فسفات یا آدنیل به این آنتی‌بیوتیک‌ها سبب غیرفعال کردن آمینوگلیکوزیدها می‌گردد.

مقاومت به آمینوگلیکوزیدها از طریق تغییر جایگاه هدف

بروز جهش‌های نقطه‌ای در مولکول ۱۶S RNA منجر به ایجاد مقاومت نسبت به آمینوگلیکوزیدها می‌شود. آمینوگلیکوزیدها بااتصال به زیر واحد ۳۰S ریبوزومی در فرآیند صحت ترجمه تداخل ایجاد می‌کنند. آنتی‌بیوتیک‌های آمینوگلیکوزیدی رده‌ی ۲-داکسی استرپتامین آمینوسیکلیتول (همچون جنتامیسین، نئومایسین و غیره)، به‌طور اختصاصی به مولکول ۱۶SrRNA در جایگاه A کدون-رمز گشاینده اتصال می‌یابند و موجب جفت شدن نادرست کدون و آنتی‌کدون می‌شوند. برای مثال در برخی از انواع اشریشیا

Archive of SID
www.SID.ir

کلی در اثر تغییر پروتئین S12 نسبت به استرپتومایسین مقاوم می‌گردند.[۴،۲و۸] مکانیسم دیگری که منجر به مقاومت نسبت به آمینوگلیکوزیدها با تغییر اهداف دارویی می‌شود، متیلاسیون ریبوزومی توسط آنزیم‌های متیل‌ترانسفراز است که باعث مقاومت سطح بالا (HLR) در تولیدکننده‌های آمینوگلیکوزیدها می‌شود. ژنی تحت عنوان rmtA، یک آنزیم متیلاز را کد می‌کند که سبب متیلاسیون در ۱۶S rRNA می‌شود. این ژن در سراشیا مارسسنس، کلبسیلا پنومونیه و اشریشیا کلی گزارش‌شده است. این ژن‌ها در خانواده انتروباکتریاسه بر روی ترانسپوزون‌ها قرار دارند.[۶]

مقاومت به آمینوگلیکوزیدها از طریق تغییر در انتقال (ورود و دفع) پمپ‌های Efflux

با تغییر نفوذپذیری، برخی باکتری‌ها به‌طور نسبی به آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم می‌گردند، که به علت تغییر در مولکول‌های پورین و یا اجزای لیپو پلی‌ساکاریدی می‌باشد. آمینوگلیکوزیدها برای دستیابی به اهداف ریبوزومی خود باید از غشای پلاسمایی در مورد باکتری‌های گرم مثبت و از غشای خارجی در مورد باکتری‌های گرم منفی عبور کنند. نشان داده‌شده است که انتقال و عبور از غشای پلاسمایی نیازمند نیروی محرکه پروتون است و جهش‌یافته‌هایی که دچار نقص در ترکیبات زنجیره انتقال الکترون هستند نمی‌توانند آمینوگلیکوزیدها را انتقال داده بنابراین نسبت به آن‌ها مقاوم‌اند. پنج کلاس از سیستم‌های دفع غشایی که در ارتباط با مقاومت آنتی‌بیوتیکی هستند وجود دارد و خانواده (RND) (Resistance nodulation division (RND) Family) غالب‌ترین کلاس آن می‌باشد. سیستم ydhEاز خانواده MATE (Multidrug and toxic compound extrusion) در اشریشیا کلی گزارش‌شده است.[۳،۲و۲۰]

مقاومت به آمینوگلیکوزیدها از طریق غیر فعال‌سازی آنزیماتیک دارو

شایع‌ترین مکانیسم مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های خانواده آمینوگلیکوزیدی، غیر فعال‌سازی آنزیماتیک آن‌ها توسط آنزیم‌های تغییردهنده آمینوگلیکوزید در اکثر ایزوله‌های بالینی می‌باشد. این آنزیم‌ها به سه خانواده اصلی و بزرگ طبقه‌بندی می‌شوند که شامل: آمینوگلیکوزید ان- استیل‌ترانسفراز (AACs) ، آمینوگلیکوزید اُ- فسفوترانسفرازها(APHs) و آمینوگلیکوزید اُ-نوکلئوتیدیل ترانسفرازها (ANTs) یا آمینوگلیکوزید اُ-آدنیل‌ترانسفرازها (ADDs)است. این آنزیم‌ها با استفاده از استیل کوآنزیم A و یا ATP به‌عنوان سوبسترا باعث استیله شدن، فسفوریله شدن و آدنیله شدن گروه‌های منتخب آمینو یا هیدروکسیل از آمینوگلیکوزیدهای هدفشان می‌شوند.[۶،۷،۲۰و۲۲]

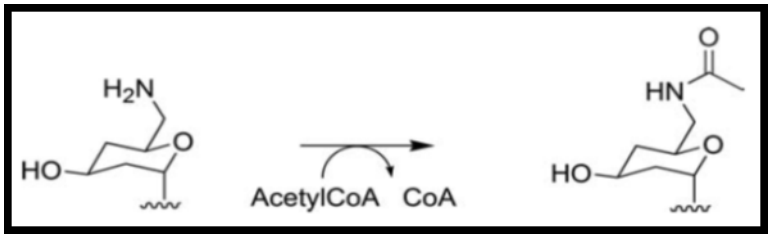
آنزیم‌های تغییردهنده آمینوگلیکوزید

تاکنون بیش از ۷۰ ژن کد کننده این آنزیم‌ها شناخته‌شده و کلون شده‌اند و تعدادی نیز همچنان ناشناخته باقی‌مانده‌اند. ولی از این تعداد تنها یک مجموعه از ژن‌ها ازلحاظ بالینی دارای اهمیت می‌باشند. به دلیل اینکه این مجموعه، آمینوگلیکوزیدهایی را غیرفعال می‌سازند که کاربرد بالینی و درمانی دارند. استیل‌ترانسفرازها با استفاده از استیل کوآنزیمA به‌عنوان دهنده، گروه استیل را به گروه‌های آمینوی آمینوگلیکوزیدها منتقل می‌کنند در مقابل نوکلئوتیدیل‌ترانسفرازها و فسفوترانسفرازها هر دو با استفاده از مولکول ATP به‌عنوان دهنده به ترتیب گروه آدنیل و فسفوریل را به گروه‌های هیدروکسیل آمینوگلیکوزیدها انتقال می‌دهند و منجر به غیرفعال شدن آن‌ها می‌شوند.[۸،۹و۲۴]

الف) آمینوگلیکوزید استیل‌ترانسفرازها

آمینوگلیکوزید ان استیل‌ترانسفرازها بزرگ‌ترین خانواده آنزیم‌های تغییردهنده آمینوگلیکوزیدها می‌باشند. این خانواده از چهار زیررده بزرگ بر اساس مکان اختصاصی انتقال گروه استیل بر روی آمینوگلیکوزید با استفاده از استیل کوآنزیم A تقسیم‌شده‌اند که شامل AAC(6́)، AAC(2́)، AAC(1) و AAC(3) می‌باشند. این آنزیم‌ها هم در باکتری‌های گرم مثبت و هم گرم منفی وجود دارند. استیل‌ترانسفرازها با استفاده از استیل کو آنزیمA به‌عنوان دهنده، گروه استیل را به گروه‌های آمینوی آمینوگلیکوزیدها منتقل می‌کنند، واکنش کاتالیز شده توسط استیل‌ترانسفرازها در شکل نشان داده‌شده است.[۷،۸و۲۷و۲۸]

Archive of SID
www.SID.ir



شکل ۲: واکنش کاتالیز شده توسط استیل‌ترانسفرازها

در میان آنزیم‌های استیل ترانس فراز ، AAC(3) شایع‌ترین آنزیم در باکتری‌های خانواده انتروباکتریاسه به شمار می‌رود. AAC(3) دارای ده کلاس می‌باشد که مهم‌ترین آن‌ها شامل:

۱- آنزیم AAC(3)-I: سوبسترای آنزیم AAC(3)-I جنتامیسین می‌باشد و دو ژن *aac(3)-Ia* و *aac(3)-Ib* مقاومت نسبت به جنتامیسین را کد می‌کند.

۲- آنزیم AAC(3)-II: سوبسترای آنزیم AAC(3)-II، جنتامیسین و توبرامایسین می‌باشد و سه ژن *aac(3)-IIa* ، *aac(3)-IIb*و *aac(3)-IIc* کد کننده مقاومت به این آنتی‌بیوتیک‌ها هستند و بیشترین فراوانی را در باکتری‌های گرم منفی ازجمله انتروباکتریاسه، گونه‌های سودوموناس، گونه‌های سراشیا و گونه‌های اسینتوباکتر دارد.

۳- آنزیم AAC(3)-III: سوبسترای این آنزیم، آنتی‌بیوتیک‌های جنتامیسین، توبرامایسین، کانامایسین، نئومایسین، دیبکاسین و پرومایسین می‌باشد. ژن‌های *aac(3)-IIIa*، *aac(3)-IIIb* و *aac(3)-IIIc* عامل کد کننده مقاومت به این آنتی‌بیوتیک‌ها می‌باشند. این آنزیم در سودوموناس شیوع دارد.[۱۷،۱۸و۲۰]

آنزیم AAC(6′) دارای سه کلاس می‌باشد:

آنزیم AAC(6′)-I: این آنزیم مقاومت نسبت به توبرامایسین، آمیکاسین، نتیل میسین و دیبکاسین را سبب می‌شود. نه ژن *aac(6́)-I d, e, f, g, h, i* *a, b, c,* در ایجاد مقاومت به‌وسیله این آنزیم نقش دارد و این آنزیم را کد می‌کنند. این آنزیم فراوان‌ترین عامل مقاومت به آمینوگلیکوزیدها می‌باشد و خصوصاً به‌طور فراوان در باکتری‌های گرم منفی وجود دارند. بیشترین حضور این ژن در گونه‌های سراشیا مشاهده‌شده است. ژن *aac(6́)-Ie*، بخش ان-ترمینال آنزیم دوکاره AAC(6́)-APH(2″) (Bifunctional enzyme) را کد می‌کند، این آنزیم فراوان‌ترین منبع مقاومت به آمینوگلیکوزیدها در ارگانیسم‌های گرم مثبت است.[۲۴و۲۵] آنزیم AAC(6′)-APH(2") علاوه بر آنتی‌بیوتیک‌های مذکور، مقاومت نسبت به جنتامیسین را نیز کد می‌کنند. آنزیم دوکاره AAC(6́)-APH(2″) دارای فعالیت آمینوگلیکوزید کیناز و استیل‌ترانسفرازی می‌باشد و در باکتری‌های گرم مثبتی همچون استافیلوکوکوس اورئوس مکانیسم اولیه مقاومت به جنتامیسین (در بیش از ۹۰٪ ایزوله‌ها) می‌باشد.[۱۳و۲۵-۲۱]

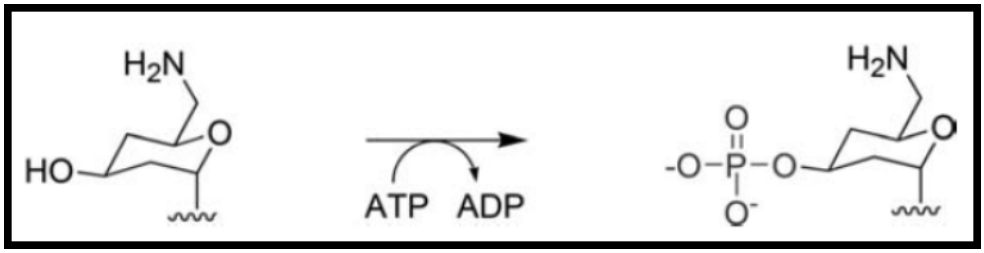
ب) آمینوگلیکوزید فسفوترانسفرازها

آمینوگلیکوزید فسفوترانسفرازها، خانواده کینازهای وابسته به ATP هستند که با استفاده از ATP که این مولکول به‌عنوان دهنده گروه فسفوریل، این گروه را به گروه‌های هیدروکسیل آمینوگلیکوزیدها انتقال می‌دهند و منجر به غیرفعال شدن آن‌ها می‌شوند.

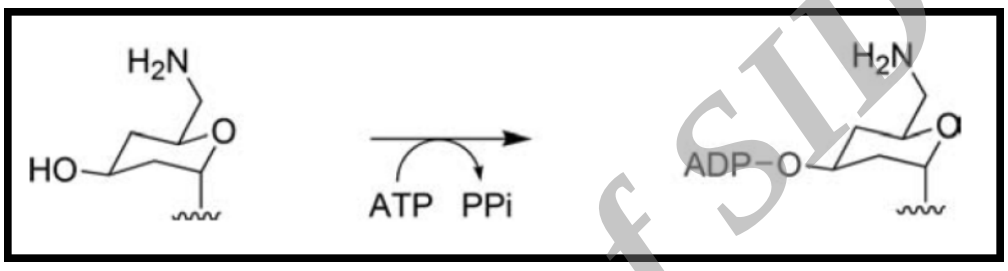
این خانواده دارای سیزده کلاس می‌باشد که شامل آنزیم‌های APH(2″)-I، APH(3́)-I، APH(3́)-II، APH(3́)-III، APH(3́)-IV، APH(3́)-V، APH(3́)-VI، APH(3́)-VII، APH(3″)-I، APH(7″)، APH(4)، APH(6) و APH(9) می‌باشد. این آنزیم‌ها به‌طور شایع در باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت حضور دارند. آنزیم APH(3́)-I مقاومت به طیف گسترده‌ای از آمینوگلیکوزیدها ازجمله کانامایسین و نئومایسین را واسطه‌گری می‌کند. واکنش کاتالیز شده توسط فسفوترانسفرازها را نیز در شکل ملاحظه می‌نمایید.[۱-۱۴]

Archive of SID

www.SID.ir



شکل۳: واکنش کاتالیز شده توسط فسفوترانسفرازها



شکل ۴: واکنش کاتالیز شده توسط نوکلئوتیدیل‌ترانسفرازها

ج) آمینوگلیکوزید نوکلئوتیدیل‌ترانسفرازها

نوکلئوتیدیل‌ترانسفرازها با استفاده از مولکول ATP به‌عنوان دهنده، گروه آدنیل را به گروه‌های هیدروکسیل آمینوگلیکوزیدها انتقال می‌دهند و منجر به غیرفعال شدن آن‌ها می‌شوند. در این خانواده پنج عضو وجود دارند که شامل ANT(2″)، ANT(4́)، ANT(3́)، ANT(6́) و ANT(9) می‌باشند. یکی از شایع‌ترین این آنزیم‌ها ، آنزیم ANT(2″)-I می‌باشد که سبب مقاومت به جنتامیسین، کانامایسین، سیزومایسین و توبرامایسین می‌شود. این آنزیم به‌طور گسترده در اغلب باکتری‌های گرم منفی حضور دارد. سه ژن *ant(2″)-Ia*، *ant(2″)-Ib* و *ant(2″)-Ic* دارای فعالیت -Oنوکلئوتیدیل‌ترانسفرازهای گزارش‌شده است. ژن *ant(2″)-Ia* بر روی پلاسمیدهای غیرکانژوگاتیو، کانژوگاتیو، ترانسپوزون‌ها و اینتگرون‌ها یافت شده است. پلاسمید pUB110 که ژن *ant(4′)-Ia* را حمل می‌کند، همچنین پلاسمیدهای الحاقی حمل‌کننده ترانسپوزون Tn4001 کد کننده ژن *aac(6′)-Ie/aph(2″)* در SCCmec IVc گزارش‌شده‌اند.[۱۳و۱۴] آنزیم دیگر ، آنزیم ANT(4′)-II می‌باشد که سوبستراهای آن شامل آمیکاسین، توبرامایسین و ایزپامیسین می‌باشد. شکل واکنش کاتالیز شده توسط نوکلئوتیدیل‌ترانسفرازها را به تصویر می‌کشد.

در جدول ۱ آنزیم‌های تغییردهنده آمینوگلیکوزیدها و سوبستراهای آن‌ها آورده شده است.

ژنتیک آنزیم‌های تغییردهنده آمینوگلیکوزیدها

ژن‌های کد کننده آنزیم‌های تغییردهنده آمینوگلیکوزید، کروموزومی یا بر روی عناصر خارج کروموزومی از قبیل پلاسمیدها و ترانسپوزون‌ها حمل می‌شوند. به‌عنوان‌مثال ژن مربوط به آنزیم APH(3′)-II روی کروموزوم قرار دارد. امروزه ژن‌های این آنزیم‌ها را مربوط به عناصر ژنتیکی متحرک می‌دانند. به‌عنوان‌مثال ژن‌های مربوط به آنزیم‌های AAC(3) در ارتباط با ترانسپوزون‌ها و اینتگرون‌ها می‌باشد.[۱۸و۲۰]

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱: آنزیم‌های تغییردهنده آمینوگلیکوزیدها و سوبستراهای آن‌ها

ENZYME	GENES	SELECTED AMINOGLYCOSIDE SUBSTRATES	COMMENTS
Acetylation			
AAC(3)-I	*aac(3)-Ia, aac(3)-Ib*	Gm	*Enterobacteriaceae*
AAC(3)-II	*aac(3)-Iia, aac(3)-Iib, aac(3)-Iic*	Gm, Tob	*Enterobacteriaceae*
AAC(3)-III	*aac(3)-IIIa, aac(3)-IIIb, aac(3)-IIIc*	Gm, Tob, Km, Neo, Prm	Commonly found in *Pseudomonas spp.* Rarely seen in *Enterobacteriaceae*
AAC(3)-IV	*aac(3)-Iva*	Gm, Tob	Commonly in *Salmonella spp.*
AAC(3)-VI	*aac(3)-Via*	Gm	Rare among *Enterobacteriaceae*
AAC(6')-I	*aac(6')-Ia*, *aac(6')-Ib*, *aac(6')-Ic*, *aac(6')-Id*, *aac(6')-Ie, aac(6')-If*, *aac(6')-Ig*, *aac(6')-Ih*, *aac(6')-Ii*	Tob, Amk	
AAC(6')-II	*aac(6')-Iia*, *aac(6')-Iib*	Gm, Tob	Observed only in *P. aeruginosa*
AAC(6')-APH(2")	*aac(6')-aph(2")*	Gm, Tob, Amk	Bifunctional enzyme thought to be restricted to gram positive bacteria. (staphylococci and enterococci)
AAC(2'-I)	*aac(2')-Ia*	Gm, Tob	
Adenylylation			
ANT(2")-I	*ant(2")-Ia*, *ant(2")-Ib*, *ant(2")-Ic*	Gm, Tob, Km	Widespread among all gram-negative bacteria
ANT(3")-I	*ant(3")-Ia*	Sm, Spcm	
ANT(4')-I	*ant(4')-Ia*	Tob, Amk	
ANT(4')-II	*ant(4')-Iia*	Tob, Amk	
ANT(6)-I	*ant(6)-Ia*	Sm	Found in gram-positive organisms
Phosphorylation			
APH(2")-I	*aph(2")-Ia*	Gm, Tob, Amk	
APH(3')-I	*aph(3')-Ia*, *aph(3')-Ib*, *aph(3')-Ic*	Km, Neo, Prm	
APH(3')-II	*aph(3')-Iia*	Km, Neo, Prm, GmB	
APH(3')-III	*aph(3')-IIIa*	Km, Neo, Prm, Amk, GmB	Commonly found in *S. aureus* and *E. faecalis*
APH(3')-IV	*aph(3')-Iva*	Km, Neo, Prm	
APH(3')-V	*aph(3')-Va*, *aph(3')-Vb*, *aph(3')-Vc*	Neo, Prm	
APH(3')-VI	*aph(3')-Via*, *aph(3')-Vib*	Km, Neo, Prm, Amk, GmB	Primarily isolated from *Acinetobacter spp.*
APH(3')-VII	*aph(3')VIIa*	Km, Neo	Cloned from *Campylobacter jejuni*
APH(3")-I	*aph(3")-Ia*, *aph(3")-Ib*	Sm	Cloned from *Streptomyces griseus*
APH(6)-I	*aph(6)-Ia*, *aph(6)-Ib*, *aph(6)-Ic*, *aph(6)-Id*	Sm	Cloned from *Streptomyces spp.*

مهم‌ترین آنزیم‌های تغییردهنده آمینوگلیکوزید در اشریشیا کلی

اصلی‌ترین مکانیسم مقاومت نسبت به آمینوگلیکوزیدها در اشریشیا کلی‌ها غیر فعال‌سازی آنزیماتیک داروها توسط آنزیم‌های تغییردهنده آمینوگلیکوزید (AMEs) با فسفوریلاسیون، استیلاسیون و آدنیلاسیون گروه عملکردی دارو می‌باشد. در میان باسیل‌های گرم منفی روده‌ای چون گونه‌های اشریشیا کلی، گونه‌های کلبسیلا، گونه‌های پروتئوس، گونه‌های سالمونلا و شیگلا شش نوع از آنزیم‌های AME وجود دارد که شامل آمینوگلیکوزید-"۲-O-نوکلئوتیدیل‌ترانسفراز I [ANT(2")-I]، آمینوگلیکوزید-′۴-O-نوکلئوتیدیل‌ترانسفراز II [ANT(4')-II]، آمینوگلیکوزید-َ۴-O-نوکلئوتیدیل‌ترانسفراز I [ANT(4′)-I]، آمینوگلیکوزید-َ۳-O-فسفوریل‌ترانسفراز I [APH(3')-I]، آمینوگلیکوزید-۳-N-استیل‌ترانسفراز II [AAC(3)-II]، آمینوگلیکوزید-′۶-N-

Archive of SID
www.SID.ir

استیل‌ترانسفراز I [I-(6')AAC] می‌باشند.[۱۲] از این میان سه آنزیم AAC(3)-II، APH(3́)-I و ANT(2″)-I که به ترتیب توسط ژن‌های *aac(3)-IIa*، *aph(3')-Ia* و *ant(2″)-Ia* کد می‌شوند، از اهمیت ویژه‌ای در باسیل‌های روده‌ای ازجمله اشریشیا کلی برخوردارند زیرا آن‌ها جزء شایع‌ترین آنزیم‌های تغییردهنده در گونه‌های مختلف انتروباکتریاسه می‌باشند و علاوه بر این باعث غیرفعال سازی آنتی‌بیوتیک‌های آمینوگلیکوزیدی می‌شوند که دارای اهمیت درمانی و بالینی هستند.[۱۳-۱۱]

مقاومت هم‌زمان به جنتامیسین و توبرامایسین در اشریشیا کلی توسط آنزیم AAC(3)-II واسطه‌گری می‌شود. این آنزیم توسط ژن *aac(3)-IIa* کد می‌شود.[۱۴] مقاومت به جنتامیسین، کانامایسین، سیزومایسین و توبرامایسین در اشریشیا کلی توسط آنزیم ANT(2″)-I که به‌وسیله‌ی ژن *ant(2″)-Ia* کد می‌شود واسطه‌گری می‌شود. این ژن اغلب بر روی پلاسمیدهای کوچک حمل می‌شود که این پلاسمیدها باواسطه پلاسمیدهای کانژوگاتیوی به کروموزوم باکتری الحاق می‌شوند. آنزیم APH(3́)-Ia که توسط ژن *aph(3')-Ia* کد می‌شود، مقاومت به نئومایسین و کانامایسین را در باکتری‌های گرم منفی روده‌ای واسطه‌گری می‌کند. این ژن بر روی ترانسپوزون‌ها حمل می‌شود که ممکن است روی کروموزوم و یا پلاسمیدها قرارگرفته باشند.[۴-۲] مهم‌ترین مکانیسم مقاومت نسبت به آمینوگلیکوزیدها ژن‌های آنزیم‌های تغییردهنده آن‌ها می‌باشد.

وان‌هوف و همکارانش در سال ۱۹۹۹ با توسعه یک روش PCR اصلی‌ترین و مهم‌ترین ژن‌های مقاومت به آمینوگلیکوزیدها در انتروباکتریاسه یعنی ژن‌های *aac(6')-Ia, aac(6')-Ib, aac(6')-Ic, aac(6')-Id, aac(6')-If, aac(6')-Ig, aac(6')-Ih, aac(6')-Ij, aac(6')-Ik, aac(6')-Il, aac(6')-Im, aac(6')-IIa, aac(6')-IIb, aac(3)-Ia, aac(3)-IIc ,aac(3)-IIIa ,aac(3)-Iva ,aac(3)-VIa , aac(2')-Ia, ant(2")-Ia, ant(4' ,4")-IIa, aph(3')-Via* را در ۱۱۰۲ ایزوله بالینی جداشده از خون، شامل ۸۹۷ ایزوله (۸۱/۴ درصد) انتروباکتریاسه (۴۴/۹ درصد اشریشیا کلی، ۱۲/۵ درصد سودوموناس، ۱۱/۵درصد گونه‌های کلبسیلا و ۸/۸درصد گونه‌های انتروباکتر) و ۱۸/۶ درصد باسیل گرم منفی غیر تخمیری بررسی کردند. نتایج این پژوهش نشان داد که ۵/۹ درصد ایزوله‌ها نسبت به جنتامیسین، ۷/۷ درصد نسبت به توبرامایسین، ۷/۵ درصد به نتیل‌میسین و ۲/۸ درصد آمیکاسین مقاوم بودند. ژن‌های *aac(3)-Ia, aac(3)-IIc, aac(3)-IVa, aac(3)-VIa* و *aac(6')-Ib* فراوان‌ترین ژن‌ها را در میان ایزوله‌ها ازجمله اشریشیا کلی داشتند. همچنین این محققان نشان دادند که مقاومت به آمینوگلیکوزیدها و حضور ژن ارتباط معنی‌داری دارند ($p < 0.05$).[۲۶] ماینارد و همکاران در سال ۲۰۰۴، ایزوله‌های اشریشیا کلی‌های جداشده از نمونه‌های مختلف عفونی حیوانی و بیماران انسانی مبتلابه عفونت‌های خارج روده‌ای در سال ۲۰۰۱ را ازنظر الگوهای فنوتیپی و ژنوتیپی مقاومت آنتی‌بیوتیکی و فاکتورهای ویرولانس مورد ارزیابی قراردادند. در میان ژن‌های مقاومت مورد ارزیابی مشاهده شد، ۱۷ درصد از ایزوله‌های حیوانی و۳۳ درصد از ایزوله‌های انسانی دارای ژن مقاومت *aac(3) -IIa* بودند، ژن *aph(3)-Ia*نیز در ۶/۹۷ درصد از ایزوله‌های حیوانی و ۴ درصد از ایزوله‌های انسانی مقاوم به کانامایسین و همین‌طور در ۸ درصد از ایزوله‌های حیوانی و ۷/۰۴ درصد از ایزوله‌های انسانی مقاوم به نئومایسین مشاهده شد. بااین‌وجود ژن‌های *aph(3)-IIa ant(2)-Ia, aac (3)-IV*در این بررسی مشاهده نشد.[۲۷]

در مطالعه دیگری کونگ و همکاران در سال ۲۰۰۶ حضور سه ژن مقاوم به آمینوگلیکوزید *aac(3)-I, II* و *aac(6')-I*را بر روی ۴۴ جدایه بالینی اشریشیا کلی به روش PCR مورد ارزیابی قراردادند. آن‌ها همچنین فنوتیپ مقاومتی به ۱۲ آنتی‌بیوتیک را به روش آگار دایلوشن بررسی کردند. نتایج ارزیابی این مطالعات، ۱۸/۱۸درصد مقاومت نسبت به آمیکاسین، ۵۶/۸۲ درصد جنتامیسین، ۶۳/۳۶ درصد توبرامایسین را نشان دادند. نتایج بررسی ژنوتیپی نشان داد که شایع‌ترین ژن مقاومت، آمینوگلیکوزید استیل ترانسفراز *aac(3)-II* (۵۲/۲۷ درصد) و پس‌ازآن ژن *aac(6')-I* با فراوانی کمتر (۵۵/۲۹ درصد) می‌باشد. ژن *aac(3)-I* در نمونه‌های موردبررسی شناسایی نشد [۲۸]. در سال ۲۰۰۷ جاکوبسن و همکاران، ۱۲۰ ایزوله اشریشیا کلی که یکی از ژن‌های مقاومت به جنتامیسین *aac(3)-IV*، *aac(3)-II* و *ant(2")-I*را داشتند ازنظر حساسیت نسبت به آنتی‌بیوتیک جنتامیسین با روش رقیق‌سازی در آگار موردبررسی قراردادند. بررسی‌ها نمایانگر این مطلب بود که، ایزوله‌هایی که ازنظر یکی از ژن‌های *aac(3)-IV* یا *ant(2")-I*مثبت بودند، MIC در حدود ۸ تا ۶۴ میلی‌گرم در لیتر را داشتند، این در حالی است که ایزوله‌هایی که دارای ژن *aac(3)-II* بودند، MIC در حدود ۳۲ تا ۵۱۲ میلی‌گرم در

Archive of SID
www.SID.ir

لیتر را داشتند، که یک ارتباط بین میزان MIC و مکانیسم اختصاصی ژنتیکی مقاومت نسبت به جنتامیسین را نشان می‌دهد.[۲۹] جاکوبسن و همکاران در سال ۲۰۰۸ بررسی گسترده‌ای به‌طور ویژه به‌منظور ردیابی مخزن مقاومت انجام دادند. هدف این تحقیق بررسی پتانسیل گسترش اشریشیا کلی مقاوم به جنتامیسین و تعیین مقاومت به جنتامیسین در فاضلاب بیمارستان دانشگاه دانیش بود. برای این منظور نمونه‌های آب، ماهانه از این بیمارستان جمع‌آوری شد. ایزوله‌های اشریشیا کلی جداشده از آب با ایزوله‌های جداشده از عفونت ادراری بیماران همان بیمارستان با روش PFGE مورد ارزیابی قرار گرفت. همه ایزوله‌ها ازنظر مقاومت به جنتامیسین و ارتباط آن با ژن‌های *aac(3)-IV, ant(2")-I, armA* و *aac(3)-II* و الگوی فنوتیپی مقاومت موردبررسی قرار گرفتند. این ایزوله‌ها بعلاوه ازنظر حضور ژن‌های ویرولانس *hlyA, chuA, sfaS, fogG, malX, traT, iutA, fyuA, iroN* و *cnf1* نیز بررسی شدند. ژن *aac(3)-II* در ایزوله‌های جداشده در هر دو گروه بیماران و فاضلاب مشاهده شد. الگوی PFGE ارتباط معناداری را بین دو گروه ایزوله اشریشیا کلی نشان می‌داد. اغلب اشریشیا کلی‌های مقاوم به جنتامیسین جداشده از بیماران و نمونه‌های فاضلاب فنوتیپ مقاومت چندگانه به همراه ژن‌های ویرولانس را در برداشتند که این ایزوله‌ها می‌تواند مخزن مقاومت و بیماری‌زایی باشند.[۳۰] در سال ۲۰۱۰ لیونگ هو و همکاران، در بررسی اپیدمیولوژیکی مقاومت به آمینوگلیکوزیدها در هنگ‌کنگ در بین سال‌های ۲۰۰۲ تا ۲۰۰۴ که بر روی ۲۴۹ ایزوله اشریشیا کلی جداشده از نمونه‌های انسانی و حیوانات اهلی صورت گرفته بود گزارش نمودند که ۱۶۰ ایزوله (۱۰۷ ایزوله انسانی و ۵۳ ایزوله حیوانی) نسبت به جنتامیسین مقاومت و ۸۲ ایزوله (۶۰ ایزوله انسانی و ۲۹ ایزوله حیوانی) حساس به جنتامیسین بودند. در بررسی ژنوتیپی ژن *aac(3)-IIa* (*aacC2*) به روش PCR، به ترتیب ۸۴/۱ ایزوله‌های انسانی و ۷۵/۵ درصد ایزوله‌های حیوانی ژن مذکور را حمل می‌کردند. در بعضی از ایزوله‌ها، ژن *aac(3)-IIa* توسط گروهی از پلاسمیدهای سازگار(IncF, IncI1 وIncN) کد می‌شدند. در این مطالعه، پلاسمید IncFII با وزن مولکولی ۱۴۰ کیلو جفت باز از یک ایزوله بالینی انسانی و سه ایزوله حیوانی جداشده است. لیونگ هو و همکاران بعلاوه نشان دادند که ایزوله‌های انسانی و حیوانی مخزن مشابهی از ژن‌های مقاومت را حمل می‌کنند.[۳۱]

نتیجه‌گیری

از مطالعات انجام‌شده استدلال می‌شود که باگذشت زمان میزان شیوع ژن‌های مقاومت به آمینوگلیکوزید افزایش‌یافته که این امر نیز لزوم بررسی سالیانه مطالعه اخیر را بیان می‌کند و تفاوت مشاهده‌شده به علت تفاوت در مولکولار اپیدمیولوژی خواهد بود. شیوع این آنزیم‌ها دارای تنوع جغرافیایی می‌باشند، درنتیجه تعیین میزان شیوع این آنزیم‌ها در کشورهای مختلف حائز اهمیت می‌باشد. علاوه بر مکانیسم آنزیم‌های تغییردهنده آمینوگلیکوزیدها، مکانیسم‌های دیگری همچون نفوذناپذیری و پمپ‌های افلاکس نیز وجود دارد؛ به‌عبارت‌دیگر چنانچه ایزوله‌ای ازنظر فنوتیپی مقاوم بوده، فاقد ژن آنزیم‌های تغییردهنده باشد، احتمالاً از طریق مکانیسم‌های دیگری مقاومت به آمینوگلیکوزیدها را کسب کرده است. با توجه به شیوع بالای عفونت‌های اکتسابی و بیمارستانی به ایزوله‌های مقاوم و افزایش بروز مقاومت در این ایزوله‌ها بایستی به‌صورت دوره‌ای و به‌طور مداوم میزان و مکانیسم ایجاد مقاومت در باکتری‌های مولد عفونت جداشده از نمونه‌های بالینی بیماران بررسی شود تا بدین‌وسیله منشأ ایزوله‌ها تعیین گردد و با انتخاب مناسب‌ترین گزینه‌ی درمانی از افزایش روزافزون مقاومت آنتی‌بیوتیکی در میان این باکتری‌ها جلوگیری شود.

تقدیر و تشکر

نویسنده مقاله از الطاف بی‌کران مرحوم دکتر مرتضی ستاری به‌پاس همه زحمات بی‌دریغ ایشان کمال سپاسگزاری را می‌نماید.

Archive of SID
www.SID.ir

References

1. Vakulenko SB, Mobashery S. Versatility of aminoglycosides and prospects for their future. Clin Microbiol Rev 2003; 16: 430-450.
2. Soleimani N, Farhangi B, Sattari M, Yadegar A, Sadeghizadeh M. Molecular Evaluation of the 2'-aminoglycoside Nucleotidyl transferase Gene in Escherichia coli Isolates that Produce Hemolysin and are Sensitive to Mannose Type I pili and P Modares. Journal of Medical Sciences: Pathobiology. 2016; 17 (2): 59-70.
3. Arya D. Aminoglycoside antibiotics, from chemical biology to drug discovery. John Wiley & Sons Inc. USA, 2007, P. 119-140.
4. Garneau-Tsodikova S, Labby KJ. Mechanisms of Resistance to Aminoglycoside Antibiotics: Overview and Perspectives. Medchemcomm. 2016 Jan 1;7(1):11-27.
5. Atasoy AR, Ciftci IH, Petek M. Modifying enzymes related aminoglycoside: analyses of resistant Acinetobacter isolates. Int J Clin Exp Med. 2015; 8 (2): 2874-80.
6. Soleimani N, Sattari M. A molecular study of aac(3)– IIa (aacC2) gene in aminoglycoside resistant Escherichia coli isolated from urine. Journal of Medical Science: Pathobiology. 2010; 13(3): 23-30.
7. Soleimani N, Sattari M, Brumand M A, Mohabati Mobarez A. Evaluation Spread of Ant (2″)-Ia Gene in Aminoglycoside Resistant Escherichia Coli Isolated from Urine by PCR**.** J Mazandaran Univ Med Sci 2012; 21(1): 175-182.
8. Abbas Yadegar, Morteza Sattari, Nour Amir Mozafari, Gholam Reza Goudarzi. Prevalence of the Genes Encoding Aminoglycoside-Modifying Enzymes and Methicillin Resistance Among Clinical Isolates of Staphylococcus aureus in Tehran, Iran. Microbial drug resistance. 2009; 15 (2): 109-113.
9. Soleimani N, Derakhshan S, Sattari M, Mohabati Mobarez A. Plasmid profile analysis and aminoglycoside resistance pattern of Escherichia coli isolated from urinary tract infections. The First International Congress of Medical Bacteriology. Tabriz University of Medical Sciences. September 2011.
10. Sutcliffe JA. Improving on nature: antibiotics that target the ribosome. Curr Opin Microbiol 2005; 8: 534-542.
11. Zembower TR, Noskin GA, Postelnick MJ, Nguyen C, Peterson LR. The utility of aminoglycosides in an era of emerging drug resistance. Int J Antimicrob Agent 1998; 10: 95-105.
12. Mingeot-Leclercq M, Tulkens P. Aminoglycosides: nephrotoxicity. antimicrob agent chemother 1999; 43: 1003-1012.
13. Soleimani N, Aganj M, Ali L, Shokoohizadeh L, Sakinc T. Frequency distribution of genes encoding aminoglycoside modifying enzymes in uropathogenic E. coli isolated from Iranian hospital. BMC Res Notes. 2014; 7 (1): 842.
14. Soleimani N, Derakhshan S, Memariani M. Plasmid Profile Analysis of Aminoglycoside-Resistant Escherichia coli Isolated From Urinary Tract Infections. International Journal of Enteric Pathogens. 2016; 4(2): e33806.
15. Brown NM, Reeves DS. Mechanisms and epidemiology of aminoglycoside resistance. J Med Microbiol 1992; 36: 11-14.
16. Paul M, Benuri-Silbiger I, Soares-Weiser K, Leibovici L. Betalactam monotherapy versus beta lactam-amino glycoside combination therapy for sepsis in immunocompetent patients: systematic review and meta-analysis of randomized trials. BMJ 2004; 328(7441): 668.
17. Richard EL. Bacterial evolution and the cost of antibiotic resistance. Internatl Microbiol 1998; 1: 265-274.
18. Damper PD, Epstein W. Role of the membrane potential in bacterial resistance to aminoglycoside antibiotics. Antimicrob Agents Chemother 1981; 20(6): 803-8.
19. Lee H, Park J, Jaing H. Dissemination of 16S rRNA methylase-mediated highly amikacin-resistant isolates of Klebsiella pneumoniae and Acinetobacter baumannii in Korea. Diagn Microbiol Infect Dis 2006; 56: 305-12.
20. Nikaido H, Zgurskaya HI. AcrAB and related multidrug efflux pumps of Escherichia coli. J Mol Microbiol Biotechnol 2001; 3(2): 215-8.
21. Shaw KJ, Rather PN, Hare RS, Miller GH. Molecular genetics of aminoglycoside resistance genes and familial relationships of the aminoglycoside-modifying enzymes. Microbiol Rev 1993; 1: 138-163.
22. Ounissi H, Derlot E, Carlier C, Courvalin P. Gene homogeneity for aminoglycoside-modifying enzymes in gram-positive cocci. J Antimicrob Agent Chemother 1990; 34: 2164-2168.
23. Rather PN. Origins of the aminoglycoside modifying enzymes. Drug Resist Updates 1998; 1: 285-291.
24. Ferretti, J. J, Gilmore KS, Courvalin P. Nucleotide sequence analysis of the gene specifying the bifunctional 6'-aminoglycoside acetyltransferase 2" aminoglycoside phosphotransferase enzyme in Streptococcus faecalis and identification and cloning of gene regions specifying the two activities. J Bacteriol 1986; 167: 631-638.
25. Rouch, D A, Byrne ME, Kong YC, Skurry RA. The aacA-aphD gentamicin and kanamycin resistance determinant of Tn4001 from Staphylococcus aureus: expression and nucleotide sequence analysis. J Gen Microbiol 1987; 133: 3039-3052.

Archive of SID
www.SID.ir

26. Vanhoof R, Nyssen HJ, Van Bossuyt E, Hannecart-Pokorni E. Aminoglycoside resistance in Gram-negative blood isolates from various hospitals in Belgium and the Grand Duchy of Luxembourg. Aminoglycoside Resistance Study Group. J Antimicrob Chemother 1999;44(4): 483-8.

27. Maynard C, Bekal S, Sanschagrin F, Levesque R, Brousseau R, Masson L, Lariviere S, Harel J. Heterogeneity among virulence and antimicrobial resistance gene profile of extra intestinal Escherichia coli isolates of animal and human origin. J Clin Microbiol 2004; 42: 5444-5452.

28. Kong HS, Li XF, Wang JF, Wu MJ, Chen X, Yang Q. Evaluation of aminoglycoside resistance phenotypes and genotyping of acetyltransferase in Escherichia coli. Zheijang J 2006; 35: 83-6.

29. Jakobsen L, Sandvang D, Jensen VF, Seyfarth AM, Frimodt-Moller N, Hammerum AM. Gentamicin susceptibility in Escherichia coli related to the genetic background: problems with breakpoints. Clin Microbiol Infect 2007; 13: 816-842.

30. Jakobsen L, Dorthe S, Lars HH, Line B, Henrik W, Claus J, Dennis SH, Bodil MP, Dominique LM, Niels F, Soren JS, Anette MH. Characterization, dissemination and persistence of gentamicin resistant Escherichia coli from a Danish university hospital to the waste water environment. Environ Intern Microbiol 2008; 34: 108-115.

31. Leung Ho P, Wong RC, Lo SW, Hung ChK, Wong SS, Lun QT. Genetic identity of aminoglycoside resistance genes in Escherichia coli isolates from human and animal sources. J Med Microbiol 2010; 34: 145-155.

Archive of SID

www.SID.ir