

## بررسی انتشار ژن ant(2'')-Ia در اشریشیا کلی‌های مقاوم به آمینوگلیکوزید جدا شده از ادرار به روش PCR

ندا سلیمانی<sup>۱</sup>  
مرتضی ستاری<sup>۲</sup>  
محمدعلی برومند<sup>۳</sup>  
اشرف محبتی مبارز<sup>۲</sup>

### چکیده

**سابقه و هدف:** اشریشیا کلی از شایع‌ترین عوامل اتیلوژیک عفونت مجاری ادراری است. غیرفعال‌سازی آنزیماتیک آمینوگلیکوزید توسط آنزیم‌های تغییردهنده‌ی آمینوگلیکوزیدها (AMEs) اصلی‌ترین مکانیسم مقاومت به این داروها در اشریشیا کلی می‌باشد. هدف از مطالعه حاضر بررسی شیوع ژن مقاومتی ant(2'')-Ia در میان جدایه‌های بالینی اشریشیا کلی از ادرار با روش PCR می‌باشد.

**مواد و روش‌ها:** در ۲۷۶ جدایه اشریشیا کلی از ادرار، الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی آن‌ها در مقابل آنتی‌بیوتیک‌های جنتامیسین، توبرامیسین، کانامیسین، آمیکاسین و نتیل‌میسین (MAST, UK) با روش انتشار دیسک با رعایت اصول CLSI تعیین شد. DNA جدایه‌ها استخراج و جهت تشخیص ژن مقاومتی ant(2'')-Ia با روش PCR استفاده شد.

**یافته‌ها:** نتایج نشان داد ۲۴/۶۳ درصد از ایزوله‌های اشریشیا کلی به توبرامیسین، ۲۳/۱۸ درصد به کانامیسین، ۲۱/۰۱ درصد به جنتامیسین، ۶/۱۵ درصد به نتیل‌میسین و ۳/۶۲ درصد به آمیکاسین مقاوم بودند. در ۴۷/۸۸ درصد از جدایه‌های اشریشیا کلی ژن ant(2'')-Ia شناسایی شد.

**استنتاج:** از آنجایی که شیوع مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های آمینوگلیکوزیدی به دلیل انتقال مقاومت در میان باکتری‌ها توسط عناصر قابل انتقال نظیر ترانسپوزون‌ها و پلاسمیدها بالاست، لذا ردیابی مسیرهای انتقال مقاومت در بین باکتری‌های مختلف بسیار مهم است.

**واژه‌های کلیدی:** آمینوگلیکوزید، اشریشیا کلی، ژن ant(2'')-Ia، عفونت ادراری

### مقدمه

مبتلا می‌شوند (۱، ۲). باکتری‌های یوروپاتوژن اغلب از فلور مدفوعی و نواحی پربنه منشأ می‌گیرند و چنانچه میکروارگانیزم بتواند بر مکانیزم‌های دفاعی طبیعی میزبان غلبه نماید، قادر خواهد بود تا در نواحی تحتانی مجرای ادراری کلونیزه شود که این رخداد به عوامل

عفونت سیستم ادراری (Urinary Tract Infection) UTI، یکی از شایع‌ترین عفونت‌ها در انسان محسوب می‌شود که تحت تأثیر جنسیت و سن قرار دارد. این عفونت در بین زنان جوان بسیار شایع است. به طوری که ۲۰ تا ۳۰ درصد زنان به‌طور مکرر به عفونت ادراری

**مؤلف مسئول:** اشرف محبتی مبارز - تهران: دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم پزشکی، گروه باکتری شناسی پزشکی E-mail: mmmobarez@modares.ac.ir

۱. دانشجوی دکترا، گروه باکتری شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس

۲. گروه باکتری شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس

۳. گروه پاتولوژی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تهران

تاریخ دریافت: ۹۰/۴/۲۰ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۹۰/۹/۲۰ تاریخ تصویب: ۹۰/۱۱/۱۰

بیماری‌زایی باکتری و مستعد بودن میزبان برای ابتلاء به عفونت بستگی دارد (۳، ۴). گاه بیماری در قسمت انتهایی دستگاه ادراری و به صورت سیستیت و گاه در کلیه‌ها به صورت پیلونفریت است (۵). امروز جدایه‌های *E. coli* مقاومت چندگانه‌ای را نسبت به برخی از آنتی‌بیوتیک‌ها از جمله آمینوگلیکوزیدها نشان می‌دهند. اهمیت بالینی آمینوگلیکوزیدها از آن جهت است که بر علیه طیف وسیعی از باکتری‌های هوازی خصوصاً باکتری‌های گرم منفی، بسیاری از استتافیلوکوک‌ها و برخی استرپتوکوک‌ها مؤثر می‌باشند و بیشترین کاربرد را در درمان عفونت‌های ناشی از باسیل‌های گرم منفی هوازی و بی‌هوازی اختیاری نشان می‌دهند. جنتامیسین دارای فعالیت نسبتاً بیشتری علیه اش‌ریشیا کلی و گونه‌های سرایشیا می‌باشد (۶). 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 گزارش شده است. سه مکانیسم مقاومت شامل تغییر در جایگاه ریبوزومی اتصال دارو، کاهش در نفوذپذیری دارو و غیرفعال‌سازی آنزیماتیک دارو، مسئول مقاومت به آمینوگلیکوزیدها می‌باشند (۷). از این بین غیرفعال‌سازی آنزیماتیک آمینوگلیکوزیدها توسط آنزیم‌های تغییردهنده آن‌ها، اصلی‌ترین مکانیسم مقاومت به این داروها در باکتری‌های گرم منفی می‌باشد. سویه‌های مقاوم توانایی تغییر در ساختار بیوشیمیایی آمینوگلیکوزیدها را توسط آنزیم‌های تغییردهنده آمینوگلیکوزیدها (Aminoglycosides Modifying Enzymes: AMEs) را دارا هستند. سویه‌های تولیدکننده AMEs اثر سینرژیستی بین آمینوگلیکوزیدها و عوامل ضد دیواره‌ای گوناگون را از بین می‌برند (۸). ژن مقاومت *ant(2'')-Ia* از جمله ژن‌های تغییر دهنده‌ی آمینوگلیکوزیدها می‌باشد. آنزیم رمز شده توسط ژن

مذکور باعث مقاومت به کانامایسین، جنتامیسین و توبرامایسین می‌شود. گزارش‌های بسیاری از آمینوگلیکوزیدهای گوناگون در سراسر دنیا وجود دارد. توسعه مقاومت آنتی‌بیوتیکی خصوصاً مقاومت به آمینوگلیکوزیدهایی که با واسطه پلاسمید عمل می‌کنند سریعاً باعث انتقال ژن مقاومت به سایر باکتری‌ها از جمله باکتری‌های گرم منفی گردیده، ارگانیزم‌ها را نسبت به درمان مقاوم می‌کند (۹، ۱۰). با توجه به اهمیت مقاومت آمینوگلیکوزیدی و نیز دخالت ژن *ant(2'')-Ia* و نقش احتمالی پلاسمیدها در بروز این پدیده در پژوهش حاضر، بررسی حضور ژن مقاومت *ant(2'')-Ia* در بین جدایه‌های بالینی اش‌ریشیا کلی مقاوم به آمینوگلیکوزید جدا شده از ادرار به روش PCR مورد بررسی قرار گرفته است.

## مواد و روش‌ها

### جمع‌آوری و تشخیص باکتری‌ها

تعداد ۲۷۶ جدایه اش‌ریشیا کلی از عفونت‌های دستگاه ادراری بیماران مراجعه کننده به مرکز قلب تهران جمع‌آوری شد. جدایه‌های اش‌ریشیا کلی با انجام تست‌های بیوشیمیایی افتراقی شامل چگونگی تخمیر قندها در محیط TSI (Triple Sugar Iron Agar)، تولید اندول و حرکت در محیط SIM، واکنش در محیط MR (Methyl Red) و VP (Voges-Proskauer) و عدم رشد در محیط سیمون سترات و در نهایت مقایسه نتایج با جداول استاندارد، تایید هویت گردیدند. در نهایت تمامی جدایه‌ها در محیط تریپتیک سوی برات (Tryptic Soy Broth: TSB) (از شرکت Merck آلمان) حاوی ۱۵ درصد گلیسرول استوک (Glycerol stock) کشت داده شد و در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

### تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌ها

برای تعیین الگوی حساسیت جدایه‌های

## واکنش PCR

برای تکثیر ژن ant(2'')-Ia از دو جفت آغازگر (primer) اختصاصی که توسط ماینارد و همکاران (۱۱) معرفی شده، استفاده گردید (جدول شماره ۱).

جدول شماره ۱: توالی آغازگر مورد استفاده به همراه اندازه قطعات محصول PCR

زن	توالی	تعداد نوکلئوتید	طول قطعه محصول (جفت باز)	مرجع
	پیشونده 5' TCC AGA ACC TTG ACC GAA C 3'	۱۹	۷۰۰	۱۱
ant(2'')-Ia	برگشتی 5' GCA AGA CCT CAA CCT TTT CC'	۲۰		

مخلوط واکنش در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل ۰/۱ میکرومول از هر آغازگر، ۲/۵ میکرولیتر بافر ۱۰X، ۲/۵ میلی مول MgCl<sub>2</sub>، ۰/۲ میلی مول dNTPs، ۲ میکرولیتر DNA الگو، ۱/۵ واحد آنزیم Taq DNA polymerase (از شرکت سیناژن). حجم نهایی با آب دیونیزه استریل به ۲۵ میکرولیتر رسانده شد. برنامه تکثیر در دستگاه ترموسایکلر (Mastercycler gradient از شرکت Eppendorf آلمان) نیز به این صورت تنظیم شد: واسرشتگی اولیه در ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه، بعد از آن ۳۰ چرخه شامل واسرشتگی در ۹۵ درجه سانتیگراد به مدت ۱ دقیقه، اتصال آغازگرها در ۶۲ درجه سانتی گراد به مدت ۱ دقیقه، تکثیر در ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۱ دقیقه، پس از اتمام ۳۰ چرخه، تکثیر نهایی در ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه انجام گرفت. در واکنش های PCR از DNA الگو سویه استاندارد اشیریشیا کلی ATCC ۲۵۹۲۲ به عنوان کنترل منفی و از سویه استاندارد اشیریشیا کلی ۸۵۰۸۵ (ant(2'')-Ia+) به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. محصولات PCR توسط الکتروفورز بر روی ژل ۱ درصد آگارز از یکدیگر جدا شدند. برای تعیین سائز محصولات PCR از یک مارکر مولکولی ۱۰۰ جفت بازی (شرکت Fermentas لیتوانی) استفاده شد. ژل آگارز حاصل پس از رنگ آمیزی اتیدیوم بروماید با

اشیریشیا کلی از روش انتشار از دیسک کربی بائر (Kirby Bauer disk diffusion method) با به کارگیری دیسک های آنتی بیوتیک (از شرکت Mast انگلستان) استفاده شد و تفسیر نتایج حاصل مطابق با استانداردهای CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute) انجام شد. حساسیت باکتری ها نسبت به آنتی بیوتیک های جنتامیسین (10µg)، آمیکاسین (30µg)، نیتیل میسین (30µg)، توبرامایسین (10µg) و کانامایسین (30µg) مورد بررسی قرار گرفت. جهت کنترل کیفی دیسک ها از سویه های استاندارد اشیریشیا کلی ATCC ۲۵۹۲۲، استافیلوکوکوس اورئوس ATCC ۲۵۹۲۳ موجود در آزمایشگاه تربیت مدرس و از کلبسیلا پنومونیه ۲۳۸۲۳ (aac(3)-IIa+) و اشیریشیا کلی ۸۵۰۸۵ (ant(2'')-Ia+) تهیه شده از Statens Serum Institute of Denmark برای کنترل مقاومت به آمینو گلیکوزیدها استفاده شد.

## استخراج DNA

برای استخراج و خالص سازی DNA از جدایه های اشیریشیا کلی و سویه های استاندارد، به منظور انجام واکنش های PCR از کیت استخراج DNA (سیناژن) استفاده شد. تک کلنی از جدایه ها در محیط مایع LB کشت داده، به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه گردید و پس از سانتریفیوژ RPM ۳۰۰۰ به مدت ۲ دقیقه، رسوب حاصل برای استخراج DNA استفاده شد. غلظت DNA از طریق اندازه گیری جذب نوری در طول موج ۲۶۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (شرکت Labsystems فنلاند) اندازه گیری گردید.

الکتروفورز DNA استخراج شده بر روی ژل آگارز ۰/۸ درصد انجام شد. الکتروفورز به صورت افقی و با استفاده از بافر TAE و ولتاژ ۸۰ ولت انجام شد. ژل آگارز پس از رنگ آمیزی با اتیدیوم بروماید (۰/۵ میکروگرم بر میلی لیتر) با دستگاه ژل داک (شرکت Biometra آلمان) بررسی گردید.

استفاده از ترانس لومیناتور و ژل داک مجهز به دوربین دیجیتال عکس برداری شد و باندهای ایجاد شده با کنترل‌های مثبت و منفی مقایسه گردید.

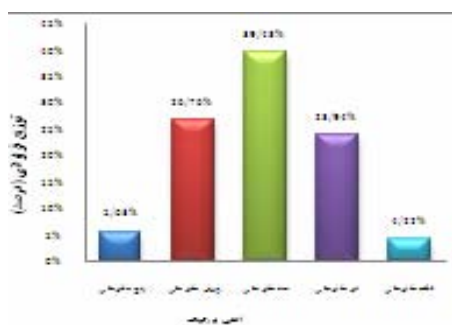
## یافته ها

### نتایج فنوتیپی مقاومت به آمینوگلیکوزیدها

جدایه‌های جمع‌آوری شده از بیماران مراجعه‌کننده به مرکز قلب تهران با روش‌های مرسوم آزمایشگاهی تأیید هویت شدند. کلیه جدایه‌ها از نظر تخمیر گلوکز و لاکتوز، حرکت، آزمایش MR و تولید اندول مثبت بودند و از نظر استفاده از سیترات، آزمایش VP، تولید اکسیداز و تولید اوره آز منفی ثبت شدند. در خصوص مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های آمینوگلیکوزیدی از میان کل ایزوله‌های بررسی شده، ۷۱ ایزوله حداقل نسبت به یکی از آمینوگلیکوزیدهای مورد آزمایش در روش انتشار از دیسک مقاومت نشان دادند. بیشترین میزان مقاومت نسبت به توبرامایسین و کمترین میزان مقاومت نیز نسبت به آمیکاسین مشاهده شد.

نتایج مقاومت جدایه‌های مورد مطالعه در برابر آنتی‌بیوتیک‌های خانواده آمینوگلیکوزید نشان داد که از میان ۲۷۶ ایزوله بررسی شده، ۱۷۱ ایزوله حداقل نسبت به یکی از آمینوگلیکوزیدهای مورد آزمایش در روش انتشار از دیسک مقاومت نشان دادند که مقاومت آن‌ها به پنج صورت تک مقاومتی، دو مقاومتی، سه مقاومتی، چهار مقاومتی و پنج مقاومتی ظاهر شدند که در نمودار شماره ۱ نشان داده شده است. ۴ ایزوله (۵/۶۳ درصد) به هر پنج آمینوگلیکوزید توبرامایسین، کانامایسین، نتیل‌میسین، آمیکاسین و جنتامیسین مقاومت نشان دادند. ۱۹ ایزوله (۲۶/۷۶ درصد) به چهار آمینوگلیکوزید مقاومت نشان دادند، که این نوع مقاومت به دو شکل توبرامایسین، جنتامیسین، کانامایسین، نتیل‌میسین (۱۳ ایزوله)، آمیکاسین، توبرامایسین، جنتامیسین، کانامایسین (۶ ایزوله) مشاهده شد. ۲۸ ایزوله (۳۹/۴۳ درصد) به سه

آنتی‌بیوتیک توبرامایسین، جنتامیسین، کانامایسین مقاومت نشان دادند. ۱۷ ایزوله (۲۳/۹۴ درصد) به دو آمینوگلیکوزید مقاومت نشان دادند، که این نوع مقاومت به دو شکل توبرامایسین، جنتامیسین (۴ ایزوله)، توبرامایسین، کانامایسین (۱۳ ایزوله) مشاهده شد. در نهایت ۳ ایزوله (۴/۲۲ درصد) دارای مقاومت تکی به آمینوگلیکوزیدها بودند.



نمودار شماره ۱: فراوانی مقاومت‌های پنج‌گانه، چهارگانه، سه‌گانه، دوگانه و تکی نسبت به آمینوگلیکوزیدها در ایزوله‌های بالینی جدا شده از ادرار

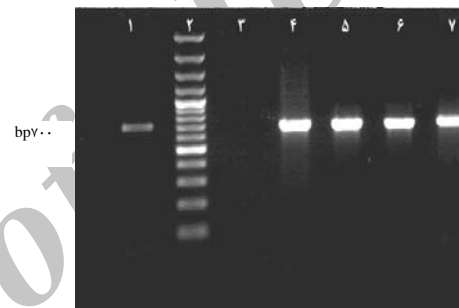
### نتایج PCR

نتایج PCR جدایه‌های مورد مطالعه نشان داد که ۴۷/۸۸ درصد دارای ژن ant(2'')-Ia بودند و ژن مذکور در ایزوله‌های حساس از نظر فنوتیپی وجود نداشت. بین حضور ژن ant(2'')Ia و مقاومت به توبرامایسین و جنتامیسین و کانامایسین ارتباط تقریباً کاملی وجود دارد، به بیان دیگر این ژن در اکثر ایزوله‌هایی که در روش‌های انتشار از دیسک نسبت به توبرامایسین و جنتامیسین و کانامایسین مقاوم بودند، حضور دارد. از نظر آماری ارتباط معنی‌داری بین حضور ژن ant(2'')Ia و مقاومت به توبرامایسین و جنتامیسین و کانامایسین مشاهده شد. در جدول شماره ۳ ارتباط بین حضور ژن آنزیم تغییردهنده آمینوگلیکوزید ant(2'')Ia و فنوتیپ‌های مختلف مقاومت آمینوگلیکوزیدی در ایزوله‌های بالینی اشریشیا کلی مشاهده می‌شود.

جدول شماره ۲: ارتباط بین حضور ژن‌های AME و فوتیپ‌های مختلف مقاومت آمینوگلیکوزیدی در ایزوله‌های بالینی اشریشیا کلی مقاوم به آمینوگلیکوزید

ant(2'')Ia	فوتیپ مقاومت*
+	GM, AK, N, TN, K
+	GM, AK, N, TN, K
+	GM, N, TN, K
+	GM, TN
+	TN, K
+	GM, TN, K
+	TN
+	K
-	N
+	GM
-	AK

\*GM, gentamicin; AK, amikacin; N, netilmicin; TN, tobramycin; K, kanamycin; +, present; -, absent



تصویر شماره ۱: چاهک ۱: سویه کنترل مثبت، چاهک M: مارکر 100 bp Plus، چاهک ۳: چاهک کنترل منفی، ستون‌های ۴-۵-۶-۷ ایزوله‌های بالینی جدا شده از ادرار دارای ژن ant(2'')-Ia، اندازه محصول PCR، ۷۰۰ bp

جدول شماره ۲: نتایج حاصل از آزمون انتشار از دیسک برای آمینوگلیکوزیدها در ۲۷۶ ایزوله بالینی اشریشیا کلی جدا شده از ادرار

نوع اثر آنتی بیوتیک	حساس		نیمه حساس		مقاوم	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
توبرامایسین	۲۰۸	۷۵/۳۶	۰	۰	۶۸	۲۴/۶۳
کانامایسین	۲۱۰	۷۶/۸۰	۲	۰/۷۲	۶۴	۲۳/۱۸
جنتامیسین	۲۱۴	۷۷/۵۳	۴	۱/۴۴	۵۸	۲۱/۰۱
نتیل‌میسین	۲۵۲	۹۱/۳	۷	۲/۵۳	۱۷	۶/۱۵
آمیکاسین	۲۵۹	۹۳/۸۴	۷	۲/۵۳	۱۰	۳/۶۲

## بحث

آمینوگلیکوزیدها با وجود داشتن عوارض جانبی و مشکلاتی که در ارتباط با افزایش مقاومت میکروارگانیسم‌ها نسبت به این داروها دارند، همچنان

در درمان عفونت‌های باکتریایی با ارزش هستند. معمول‌ترین مکانیسم مقاومت به آمینوگلیکوزیدها در اشریشیا کلی، تغییر آن‌ها توسط آنزیم‌های تغییردهنده آمینوگلیکوزیدها است، به صورتی که این آنتی‌بیوتیک‌ها دیگر قادر به اتصال به ریبوزوم سلول نیستند (۱۲). ژن‌های رمز کننده این آنزیم‌ها توسط پلاسمید یا کروموزوم حمل شده و اغلب توسط عناصر ژنتیک قابل انتقال نظیر ترانسپوزون‌ها انتقال می‌یابند (۱۳). ژنوم باکتری کاملاً تغییر پذیر است. علاوه بر اضافه شدن و حذف ژن‌های موجود در کروموزوم، فوتیپ باکتری با از دست دادن یا کسب پلاسمیدها تغییر می‌یابد. مقاومت آنتی‌بیوتیکی در بین باکتری‌ها از طریق پلاسمیدهای R منتقل می‌شود (۱۴). شیوع یک خصوصیت از طریق انتقال پلاسمیدها (انتقال افقی) بهتر از انتقال یک کلون باکتریایی خاص اتفاق می‌افتد و موجب بروز پدیده مقاومت در باکتری‌های دارنده این پلاسمیدها می‌گردد (۱۵). مقاومت به جنتامیسین، کانامایسین، سیزومایسین و توبرامایسین در اشریشیا کلی توسط یکی از آنزیم‌های تغییر دهنده آمینوگلیکوزیدی به نام ANT(2'')-I که به وسیله ژن ant(2'')-Ia کد می‌شود واسطه‌گری می‌شود. این ژن اغلب بر روی پلاسمیدهای کوچک حمل می‌شود که این پلاسمیدها با واسطه پلاسمیدهای کانژوگاتیوی به کروموزوم باکتری الحاق می‌شوند.

در این تحقیق شیوع ژن مقاومت ant(2'')Ia در میان ۷۱ جدایه مقاوم به آمینوگلیکوزیدی از ۲۷۶ جدایه اشریشیا کلی عفونت دستگاه ادراری بیماران مراجعه کننده به مرکز قلب تهران با استفاده از روش PCR بررسی گردید. در مطالعه حاضر مشخص شد که ۲۴/۶۳ درصد از جدایه‌ها به توبرامایسین مقاوم بودند و پس از آن بیشترین میزان مقاومت به ترتیب در برابر کانامایسین (۲۳/۱۸ درصد)، جنتامیسین (۲۱/۰۱ درصد)، نتیل‌میسین (۶/۱۵ درصد)، آمیکاسین (۳/۶۲ درصد) مشاهده شد. وانگ هوف و همکاران در سال ۱۹۹۹ با

بررسی ۸۹۷ جدایه انتروباکتریاسه جدا شده از خون، مشاهده کردند ۵/۹ درصد جدایه‌ها نسبت به جنتامیسین، ۷/۷ درصد نسبت به توبرامایسین، ۷/۵ درصد به نتیل-میسین و ۲/۸ درصد آمیکاسین مقاومت دارند (۱۶). در مطالعه کونگک و همکاران در سال ۲۰۰۶ بر روی ۴۴ جدایه بالینی اشریشیا کلی، ۱۸/۱۸ درصد مقاومت نسبت به آمیکاسین، ۵۶/۸۲ درصد جنتامیسین، ۶۳/۳۶ درصد توبرامایسین را نشان دادند (۱۷). طی مطالعه لنگک هو و همکاران در سال ۲۰۱۰ بر روی ۲۴۹ جدایه اشریشیا کلی جدا شده از نمونه‌های بالینی انسان، ۸۳/۳ درصد از جدایه‌ها نسبت به جنتامیسین مقاوم گزارش شدند (۱۸) در مقایسه بین نتایج مطالعات مختلف مشاهده می‌شود که با گذشت زمان میزان مقاومت اشریشیا کلی به آمینوگلیکوزیدها رو به افزایش است، اما تفاوتی که در نتایج به دست آمده از سایر مطالعات و مطالعه حاضر مشاهده می‌شود می‌تواند به دلیل تفاوت در منطقه جغرافیایی یا تفاوت در تعداد جدایه‌های مورد آزمایش باشد که نیاز به بررسی‌های بیشتر دارد. از سوی دیگر برای اثبات افزایش شیوع مقاومت به آمینوگلیکوزیدها، لازم است مطالعه حاضر به صورت سالیانه مجدداً در همین مرکز درمانی تکرار شود. نتایج حاصل از PCR نشان داد که ۵۴/۸۳ درصد از جدایه‌ها ژن مقاومت *Ia*-*aac*(3) را دارا می‌باشند. بین نتایج به دست آمده از مطالعه اخیر و سایر مطالعات هماهنگی وجود دارد، به گونه‌ای که مطالعات ماینارد و همکاران در سال ۲۰۰۴ نشان دادند که ۱۷ درصد از جدایه‌های حیوانی و ۳۳ درصد از جدایه‌های انسانی دارای ژن مقاومت *Ia*-*aac*(3) بودند، با این وجود ژن *Ia*-*ant*(2) در این بررسی مشاهده نشد (۱۱). در سال ۲۰۰۷ جاکوبسن و همکاران، ۱۲۰ ایزوله اشریشیا کلی که یکی از ژن‌های مقاومت به جنتامیسین *Ia*-*ant*(2)، *Ia*-*aac*(3) و *IIa*-*aac*(3) را داشتند از نظر حساسیت نسبت به آنتی‌بیوتیک جنتامیسین با روش رقیق‌سازی در آگار مورد بررسی قرار دادند. بررسی‌ها نمایان‌گر این مطلب بود که، ایزوله‌هایی که از

نظر یکی از ژن‌های *IV*-*aac*(3) یا *I*-*ant*(2) مثبت بودند، MIC در حدود ۸ تا ۶۴ میلی‌گرم در لیتر را داشتند، این در حالی است که ایزوله‌هایی که دارای ژن *II*-*aac*(3) بودند، MIC در حدود ۳۲ تا ۵۱۲ میلی‌گرم در لیتر را داشتند، که یک ارتباط بین میزان MIC و مکانیسم اختصاصی ژنتیکی مقاومت نسبت به جنتامیسین را نشان می‌دهد (۲۱)، اما در سال ۲۰۰۸ نشان دادند که از ۷۶ جدایه مقاوم به جنتامیسین *E. coli*، ۶۳/۱۵ درصد جدایه‌ها ژن *IIa*-*aac*(3) را حمل می‌کردند ولی این پژوهش ژن *Ia*-*ant*(2) بررسی نشد (۲۲). همان‌گونه که به وضوح از مطالعه جاکوبسن و همکاران استدلال می‌شود، با گذشت زمان میزان شیوع ژن مقاومت به آمینوگلیکوزیدی افزایش یافته که این امر نیز لزوم بررسی سالیانه مطالعه اخیر را بیان می‌کند و تفاوت مشاهده شده به علت تفاوت در مولکولار اپیدمیولوژی خواهد بود. با توجه به مقاومت بالای اشریشیا کلی که در پژوهش حاضر و پژوهش‌های مشابه گزارش شده است (۱۴، ۱۸-۱۶) و فراگیر بودن آن در محیط‌های بیمارستانی، جهت پیشگیری از انتشار سویه‌های مقاوم، روش‌های کنترل مؤثرتر در ضد عفونی محیط بیمارستان از یک طرف و کاهش مصرف بی‌رویه آنتی‌بیوتیک‌های وسیع الطیف از طرف دیگر باید در نظر گرفته شود. نیز به علت افزایش شیوع مقاومت به آمینوگلیکوزیدها، تشخیص سریع و به موقع سویه‌های مقاوم به منظور انتخاب گزینه‌های درمانی مناسب و جلوگیری از گسترش مقاومت امری ضروری به نظر می‌رسد.

## سپاسگزاری

نگارندگان بدین وسیله از حمایت‌های دانشگاه تربیت مدرس و نیز پرسنل آزمایشگاه و مرکز تحقیقات مرکز قلب تهران جهت همکاری در تهیه جدایه‌های اشریشیا کلی تشکر و قدردانی می‌نمایند.

## References

- Von Baum H, Marre R. Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* and therapeutic implications. *Int J Med Microbiol* 2005; 295 (6-7): 503-511.
- Santo E, Mendonca Salvador M, Moacir Marin J. Multidrug-resistant urinary tract isolates of *Escherichia coli* from Ribeirão Preto, São Paulo, Brazil. *Braz J Infect Dis* 2007; 11(6): 575-578.
- Krachmer LB, Grianetta ET, Strain BA, Farr BM. A randomized crossover study of silver-coated urinary catheters in hospital patients. *Arch Intern Med* 2000; 160(21): 3294-3298.
- Robin RH, Contran RS, Tolkoff-Robin NE. Urinary tract infection, pyelonephritis and reflux nephropathy. In: Brenner BM. Brenner and Rector's the Kidney. 5<sup>th</sup> ed. Saunders; 1997: 1597-1654.
- Esmaili M. Study of antibiotics effects on bacteria causing urinary infections in children. *Iranian Journal of Pediatrics* 2005; 15: 165-173 (Persian).
- Vakulenko SB, Mobashery S. Versatility of aminoglycosides and prospects for their future. *Clin Microbiol Rev* 2003; 16(3): 430-45.
- Leclercq MPM, Glupczynski Y, Tulkens PM. Aminoglycosides: activity and resistance. *Antimicrob Agent Chemother* 1999; 43(4): 727-737.
- Murray BE. Diversity among multidrug resistant Enterococci. *Emerg Infect Dis* 1998; 4(1): 37-47.
- Nicas TI, Iglewski HB. Isolation and characterization of transposon-induced mutants of *Pseudomonas aeruginosa* deficient in exoenzyme S. *Infect Immun* 1984; 45(2): 470-486.
- Vasil M, Ochsner UA. The response of *Pseudomonas aeruginosa* to iron: genetics. *Mol Microbiol* 1999; 34(3): 399-413.
- 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 (12): 5444-5452.
- Bellaaj A, Bollet C, Ben-Mahrez K. Characterization of the 3-N-aminoglycoside acetyltransferase gene *aac(3)-IIa* of a clinical isolate of *Escherichia coli*. *Annal Microbiol* 2003; 53: 211-217.
- Choi SM, Kim SH, Kim HJ, Lee DG, Choi JH, Yoo JH, et al. Multiplex PCR for the detection of genes encoding aminoglycoside modifying enzymes and methicillin resistance among *Staphylococcus* species. *J Korean Med Sci* 2003; 18(5): 631-636.
- Shahid M, Malik A. Resistance due to aminoglycoside modifying enzymes in *Pseudomonas aeruginosa* isolates from burns patients. *Indian J Med Res* 2005; 122(4): 324-329.
- Foxman B, Riley L. Molecular epidemiology: Focus on infection. *Am J Epidemiol* 2001; 153(12): 1135-1141.
- Vanhoof R, J. Nyssen H, Van Bossuyt E, Hannecart-Pokorni E and the Aminoglycoside resistance study group. aminoglycoside resistance in Gram-negative blood isolates from various hospitals in Belgium and the Grand Duchy of Luxembourg. *J Antimicrob Chemother* 1999; 44(4): 483-488.
- Kong HS, Li XF, Wang JF, Wu MJ, Chen X, Yang Q. Evaluation of aminoglycoside

- 
- resistance phenotypes and genotyping of acetyltransferase in *Escherichia coli*. *Zhejiang J* 2006; 35(1): 83-86.
18. Ho PL, Wong RC, Lo SW, Chow KH, Wong SS, Que TL. Genetic identity of aminoglycoside resistance genes in *Escherichia coli* isolates from human and animal sources. *J Med Microbiol* 2010; 59(Pt 6):702-7.
19. Vorland LH, Carlson K, Aalen O. Antibiotic resistance and small R plasmids among *Escherichia coli* isolates from outpatients' urinary tract infections in northern Norway. *Antimicrob Agents Chemother* 1985; 27(1): 107-113.
20. Celebi A, Duran N, Ozturk F, Açık L, Aslan G, Aslantafl O. Identification of clinic uropathogen *Escherichia coli* isolates by antibiotic susceptibility, plasmid and whole cell protein profiles. *Advance Molecul Biol* 2007; 1: 31-40.
21. Jakobsen L, Sandvang D, Jensen VF, Seyfarth AM, Frimodt-Møller N, Hammerum AM. Gentamicin susceptibility in *Escherichia coli* related to the genetic background: problems with breakpoints. *Clin Microbiol Infect* 2007; 13(8): 816-842.
22. Jakobsen L, Sandvang D, Hansen LH, Bagger-Skjøt L, Westh H, Jørgensen C, et al. Characterization, dissemination and persistence of gentamicin resistant *Escherichia coli* from a Danish university hospital to the waste water environment. *Environ Int Microbiol* 2008; 34(1): 108-115.

Archive of SID