مقاله پژوهشی

ارمغان دانش، مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج
دوره ۲۷، شماره ۲، خرداد و تیر ۱۴۰۱(شماره پی در پی ۱۵۱)

بررسی شیوع ژن‌های مقاومت آمینوگلیکوزیدی *ant(2'')-Ia* و *ant(4')-IIa* در سویه‌های *اشریشیاکلی* جدا شده از عفونت ادراری

احمد جبرالدینی[1*]، سیده فائزه تقوی[1]، فاطمه حیدری[2]

[1] گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده علوم پزشکی گراش، گراش، ایران، [2] گروه پرستاری، دانشکده علوم پزشکی گراش، گراش، ایران

تاریخ وصول: ۱۴۰۰/۰۷/۲۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۸/۲۴

چکیده

زمینه و هدف: حدود۴۰ درصد از زنان و ۱۲ درصد از مردان حداقل یک بار عفونت مجاری ادراری را در طول زندگی خود تجربه می‌کنند. آمینوگلیکوزیدها عوامل ضدمیکروبی وسیع‌الطیف بسیار مؤثری هستند. ظهور و گسترش مقاومت آنتی‌بیوتیکی در *اشریشیا کلی* یک نگرانی رو به افزایش برای بهداشت عمومی در سراسر جهان است. لذا هدف از این مطالعه تعیین و بررسی شیوع ژن‌های مقاومت آمینوگلیکوزیدی ant(2'')-Ia وant(4')-IIa در سویه‌های اشریشیاکلی جدا شده از عفونت ادراری بود.

روش بررسی: این مطالعه یک مطالعه توصیفی ـ مقطعی می‌باشد که بر روی ۱۸۷ سویه *اشریشیا کلی* جدا شده از نمونه ادرار بیماران مراجعه کننده به بیمارستان امیرالمومنین علی(ع) شهرستان گراش استان فارس در طی یک سال از تیرماه ۱۳۹۹ لغایت تیر۱۴۰۰ انجام گرفت. الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به توبرامایسین، جنتامایسین، کانامایسین و آمیکاسین به روش انتشار از دیسک بررسی شد. جهت بررسی حضور ژن *ant(2'')-Ia* و *ant(4')-IIa* از روش PCR استفاده شد. برای تحلیل داده‌ها از آزمون آماری کای دو استفاده گردید.

یافته‌ها: از ۱۸۷ سویه مورد مطالعه، ٦٢ سویه(۳۳/۱۵ درصد) به آمینوگلیکوزیدها مقاوم بودند. بیشترین و کمترین مقاومت آمینوگلیکوزیدی به‌ترتیب نسبت به توبرامایسین(۷۹/۰۳ درصد) و آمیکاسین(۱۱/۲۹ درصد) مشاهده شد. ۲ سویه(۳/۲۲ درصد) هم‌زمان نسبت به همه آمینوگلیکوزیدها مقاومت داشتند. ژن *ant(2'')-Ia* و*ant(4')-IIa* به ترتیب در۱۷ سویه(۲۷/۴۱ درصد) و ۱۱ سویه (۱۷/۷٤ درصد) شناسایی شد.

نتیجه‌گیری: نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که سویه‌های *اشریشیا کلی* جدا شده از عفونت‌ادرای در برابر آمینوگلیکوزیدهای رایج مقاومت نسبتاً کمی دارند. جهت درمان اولیه عفونت‌های ادراری ناشی از *اشریشیا کلی* در شهرستان گراش استفاده از آنتی‌بیوتیک آمیکاسین و کانامایسین توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: *اشریشیا کلی*، عفونت ادراری، آمینوگلیکوزیدها، ژن *ant(2'')-Ia*، ژن *ant(4')-IIa*

***نویسنده مسئول:** **احمد جبرالدینی**، فارس، دانشکده علوم پزشکی گراش، گروه علوم آزمایشگاهی
Email: Ahmad.jabrodini@gmail.com

مقدمه

عفونت دستگاه ادراری(Urinary Tract Infection; UTI) یکی از شایع‌ترین عفونت‌های باکتریایی در انسان است که هر ساله حدود۲۵۰ـ۱۵۰ میلیون نفر را مبتلاء می‌کند(۱). *اشریشیا کلی*(*Escherichia coli; E.coli*) یکی از علل اصلی عفونت دستگاه ادراری بیمارستانی و اکتسابی از جامعه است(۲).

آمینوگلیکوزیدها(Aminoglycosides) آنتی‌بیوتیک‌هایی با طیف گسترده هستند که جهت درمان عفونت‌های ناشی از باکتری‌های گرم مثبت و منفی، به ویژه خانواده انتروباکتریاسه استفاده می‌شوند(۳). مقاومت رو به رشد در برابر آنتی‌بیوتیک‌های رایج، توجه بالینی را به آمینوگلیکوزیدها و به ویژه استفاده از آنها در عفونت‌های ناشی از باکتری‌های گرم منفی متمرکز کرده است(٤).

امروزه مقاومت ضدمیکروبی به یک بحران جدی در زمینه بهداشت جهانی تبدیل شده که منجر به پیچیدگی و دشوار شدن راهکارهای درمانی و در نتیجه افزایش هزینه مراقبت‌های بهداشتی می‌شود(٥). مقاومت در برابر آمینوگلیکوزیدها در باکتری‌های گرم منفی به وسیله سه مکانیسم، تولید آنزیم تغییر دهنده آمینوگلیکوزیدها، اختلال در ورود آنتی‌بیوتیک به سلول و تغییر در جایگاه ریبوزومی اتصال آمینوگلیکوزیدها رخ می‌دهد(٦).

تولید آنزیم‌های تغییر دهنده آمینوگلیکوزیدی یکی از متداول‌ترین مکانیسم‌های مقاومت به آمینوگلیکوزیدها در بین سویه‌های *E.coli* است(۷). آنزیم‌های تغییر دهنده آمینوگلیکوزیدها شامل؛ آمینوگلیکوزید فسفو ترانسفرازها (APHs Aminoglycoside phosphotransferases;)، آمینوگلیکوزید استیل ترانسفرازها (Aminoglycoside acetyltransferases; AACs) و آمینوگلیکوزید نوکلئوتیدیل ترانسفرازها (Aminoglycoside nucleotideyltransferase; ANTs) می‌باشد(۸). ژن کد کننده آنزیم‌های نوکلئوتیدیل ترانسفراز(ANT) بر روی پلاسمید، ترانسپوزون و کروموزوم یافت می‌شود(۹). عملکرد آنزیم‌هایANT با افزودن یک گروه AMP به گروه‌های هیدروکسیل آمینوگلیکوزیدها در موقعیت‌های "2، "3، '4، 6 و 9 منجر به غیر فعال شدن آنها می‌شوند(۳). مهم‌ترین آنزیم‌های ANT، ("2) ANT و ('4) ANT می‌باشند که آنزیم ANT (2")-Ia قادر به تغییر جنتامایسین، توبرامایسین، کانامایسین، سیزومایسین و دی بیکاسین است و آنزیم ANT(4')-IIa در برابر آنتی‌بیوتیک‌های کانامایسین، نئومایسین، توبرامایسین، آمیکاسین، دی بیکاسین و ایزوپامایسین فعال است(۹).

با توجه به این که توزیع و انتشار جغرافیایی سویه‌های *E.coli* مقاوم به آمینوگلیکوزیدها در حال تغییر است، لذا هدف از این مطالعه تعیین و بررسی شیوع ژن‌های مقاومت آمینوگلیکوزیدی ant(2")-Ia و

ant(4')-IIaدر سویه‌های اشریشیاکلی جدا شده از عفونت ادراری بود.

روش بررسی

این مطالعه بر روی ۱۸۷ سویه *اشریشیا کلی* جدا شده از نمونه‌ی ادرار بیماران مراجعه کننده به بیمارستان امیرالمومنین علی(ع) شهرستان گراش در طی یک سال از تیرماه ۱۳۹۹ لغایت تیر ۱۴۰۰ انجام شد. بیماران با عدم سابقه بستری در بیمارستان و سوندگذاری و عدم مصرف آنتی‌بیوتیک به مدت دو هفته قبل از مراجعه به آزمایشگاه وارد مطالعه شدند. پس از اخذ رضایت‌نامه کتبی از بیماران، نمونه ادرار از قسمت میانی جریان ادرار (Midstream) در ظروف استریل جمع‌آوری شد. سویه‌های *اشرشیاکلی* با استفاده از آزمون‌های استاندارد بیوشیمیایی نظیر؛ کاتالاز، اکسیداز و محیط‌های کشت افتراقی سولفید اندول و حرکت(Sulfide Indole Motility; SIM)، تریپل شوگر آیرون آگار(Triple Sugar Iron Agar; TSI)، سیمون سیترات(Simmon citrate)، اوره آز(Urease)، متیل رد (Methyl Red)، وگس پرسکوئر-(Voges Proskauer) و لیزین دکربوکسیلاز (lysine decarboxylase; LD) شناسایی و تأیید شدند. سویه‌ها در محیط تریپتیک سوی براث (Trypticase Soy Broth; TSB) حاوی گلیسرول ۱۵ درصد کشت داده شد و در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد به منظور انجام مراحل بعدی مطالعه نگهداری شدند.

تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی به روش انتشار از دیسک کربی ـ بائر (Kirby-Bauer disk diffusion) با به کارگیری ٤ دیسک آنتی‌بیوتیکی(Mast, England) جنتامایسین (۱۰ میکروگرم)، کانامایسین(۳۰ میکروگرم)، توبرامایسین(۱۰ میکروگرم) و آمیکاسین(۳۰ میکروگرم)، پس از تهیه سوسپانسیون میکروبی معادل با کدورت نیم(۰/۵) مک فارلند(McFarland) مطابق با دستورالعمل موسسه استانداردهای بالینی و آزمایشگاهی ۲۰۲۱ (Clinical and Laboratory Standards Institute; CLSI 2021) انجام شد. جهت کنترل کیفی محیط‌های کشت و دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی از سویه‌های استاندارد *Escherichia coli* ATCC 25922 و *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 استفاده گردید.

به منظور استخراج DNA پلاسمیدی از کیت استخراج پلاسمید Plasmid Extraction Kit (Sinaclon, Iran) مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده استفاده شد. از سویه‌هایی که حداقل نسبت به یک دیسک آنتی‌بیوتیکی آمینوگلیکوزیدی مقاومت نشان داده بودند، در محیط LB (Luria-Bertani Broth or Lysogeny Broth) به مدت ٢٤ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد کشت تازه داده تهیه گردید و پس از سانتریفیوژ در ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲ دقیقه از رسوب حاصله جهت استخراج DNA پلاسمیدی استفاده شد.

واکنش PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل ۱۲/۵ میکرولیتر Master Mix (Amplicon،

دانمارک)، ۲ میکرولیتر DNA الگو، ۰/۵ میکرولیتر از هر آغازگر و حجم نهایی با آب دیونیزه استریل به ۲۵ میکرولیتر رسانده شد. برای تکثیر ژن‌های *ant(2")-Ia* و *ant(4')-IIa* از آغازگرهای اختصاصی با مشخصات ذکر شده در جدول ۱ استفاده شد. واکنش PCR جهت تکثیر ژن‌های هدف در دستگاه ترموسایکلر(BIORAD, USA) به شرح ذیل تنظیم شد؛ واسرشتگی اولیه (Initial denaturation) در ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، سپس ۳۰ چرخه شامل واسرشتگی (denaturation) در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه، اتصال(annealing) در دمای ٦٢ درجه برای ژن *ant(2")-Ia* و ٦٠ درجه برای ژن *ant(4')-IIa* به مدت ۱ دقیقه، طویل شدن(extension) در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه و در نهایت طویل شدن نهایی(Terminal extension) در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه. محصولات PCR پس از مخلوط با بافر نمونه بر روی ژل آگارز ۱ درصد الکتروفورز گردید.

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون‌های آماری مجذورکای تجزیه و تحلیل و شدند.

یافته‌ها

از میان ۱۸۷ سویه *اشریشیا کلی* مورد مطالعه، ٦٢ سویه(۳۳/۱۵ درصد) حداقل نسبت به یکی از آمینوگلیکوزیدهای مورد آزمایش مقاوم بودند. از ٦٢ سویه، ٤٩ سویه(۷۹/۰۳ درصد) به توبرامایسین مقاومت داشتند که بیشترین میزان مقاومت نسبت به آمینوگلیکوزیدها بود. هم‌چنین ٢٦ سویه(٤١/٩٣ درصد) در برابر جنتامایسین، ۲۳ سویه (۳۷/۰۹درصد) به کانامایسین و ۷ سویه (۱۱/۲۹ درصد) نسبت به آمیکاسین مقاومت نشان دادند(جدول ۲).

بر اساس نتایج فنوتیپی، ۲ سویه(۳/۲۲ درصد) به طور هم‌زمان نسبت به همه آمینوگلیکوزیدهای مورد آزمایش مقاومت نشان دادند. بیشترین درصد مقاومت هم‌زمان در ۸ سویه(۱۲/۹۰ درصد) نسبت به توبرامایسین، کانامایسین و جنتامایسین دیده شد. ۷ سویه(۱۱/۲۹ درصد) هم‌زمان به توبرامایسین و جنتامایسین مقاوم بودند و ٦ سویه(۹/٦٧ درصد) هم‌زمان نسبت به توبرامایسین و کانامایسین مقاومت داشتند. فراوانی مقاومت‌های یک و چند دارویی نسبت به آمینوگلیکوزیدها در سویه‌های *اشریشیاکلی* مورد مطالعه در نمودار ۱ آمده است.

نتایج حاصل از PCR (شکل ۱ و۲) نشان دهنده حضور ژن‌های *ant(2")-Ia* و *ant(4')-IIa* در ۲۸ سویه (٤٥/١٦ درصد) بود که از این تعداد ۱۷ سویه (۲۷/٤١ درصد) دارای ژن *ant(2")-Ia* و ۱۱ سویه (۱۷/۷٤ درصد) نیز دارای ژن *ant(4')-IIa* بودند. از نظر آماری ارتباط معنی‌داری بین وجود ژن‌های *ant(2")-Ia*

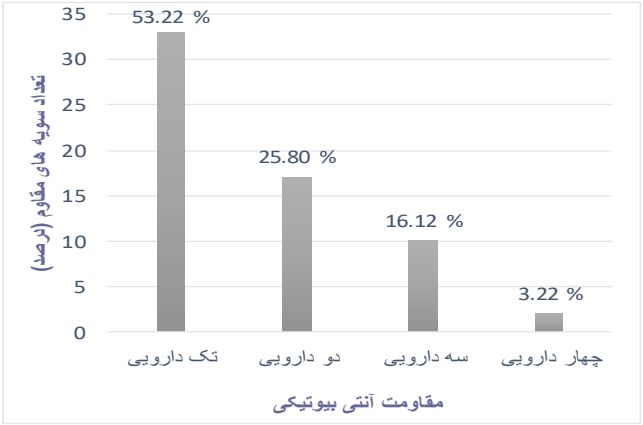
و *ant(4')-IIa* و مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های مورد آزمایش مشاهده نشد(P>۰/۰۵). فراوانی ژن‌های *ant(2")-Ia* و *ant(4')-IIa* در فنوتیپ‌های مختلف مقاومت به آمینوگلیکوزیدها در جدول ۳ آمده است.

جدول ۱: توالی نوکلوتیدی آغازگرهای مورد استفاده برای واکنش PCR

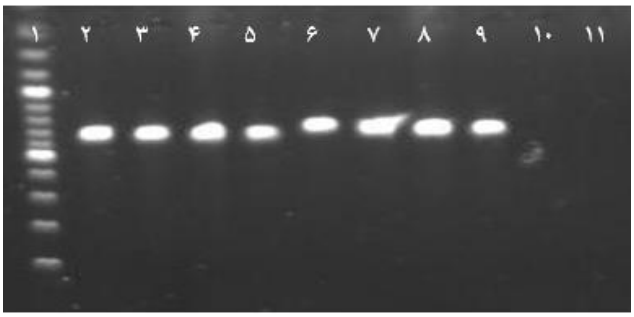
ژن	توالی نوکلوتیدی آغازگر	طول قطعه تکثیر شده (bp)	منبع
ant(2")-Ia	پیشرونده 5′ TCCAGAACCTTGACCGAAC 3′ برگشتی 5′ GCAAGACCTCAACCTTTTCC 3′	۷۰۰	۱۰
ant(4')-Iia	پیشرونده 5′ ATCGTCTGCGAGAAGCGTAT 3′ برگشتی 5′ TAAAACGCCTATCCGTCACC 3′	۸۳۹	۷

جدول ۲: توزیع فراوانی مقاومت به آمینوگلیکوزیدها در سویه‌های *اشریشیاکلی* جدا شده از عفونت دستگاه ادراری

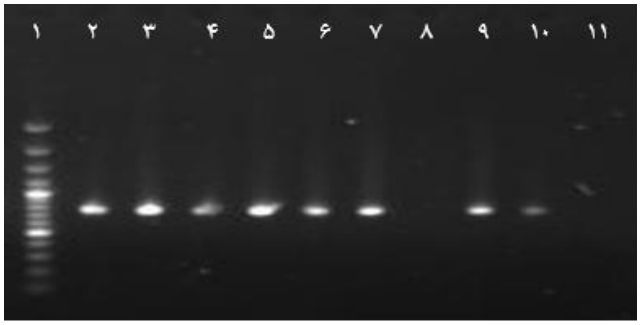
نوع اثر آنتی بیوتیک	حساس تعداد (درصد)	نیمه حساس تعداد (درصد)	مقاوم تعداد (درصد)
توبرامایسین	۹٤ (۵۰/۲۷)	٤٤ (۲۳/۵۳)	٤۹ (۲٦/۲۰)
جنتامایسین	۱٤۵ (۷۷/۵٤)	۱٦ (۸/۵٦)	۲٦ (۱۳/۹۰)
کانامایسین	۸۲ (٤۳/۸۵)	۸۲ (٤۳/۸۵)	۲۳ (۱۲/۳۰)
آمیکاسین	۱۷٤ (۹۳/۰۵)	٦ (۳/۲۱)	۷ (۳/۷٤)



نمودار ۱: فراوانی مقاومت‌های تکی، دوگانه، سه گانه و چهارگانه نسبت به آمینوگلیکوزیدها در سویه‌های *اشریشیا کلی* جداشده از ادرار



شکل۱: الکتروفورز محصول PCR ژن ant(2")-Ia سویه‌های *اشریشیا کلی*: ستون ۱) مارکر، ستون ۹-۲) سویه‌های دارای ژن ant(2")-Ia (۷۰۰bp)، ستون ۱۰ و ۱۱) سویه‌های فاقد ژن ant(2")-Ia.



شکل۲: الکتروفورز محصول PCR ژن ant(4')-IIa سویه‌های *اشریشیا کلی*؛ ستون۱) مارکر، ستون‌های ۷-۲) سویه‌های دارای ژن ant(4')-IIa (۸۳۹bp)، ستون ۸) سویه‌های فاقد ژن ant(4')-IIa، ستون ۹ و ۱۰) سویه‌های دارای ژن ant(4')-IIa (۸۳۹bp)، ستون ۱۱) سویه فاقد ژن ant(4')-IIa.

جدول ۳: توزیع فراوانی ژن‌های *ant(2")-Ia* و *ant(4')-IIa* در فنوتیپ‌های مختلف مقاومت به آمینوگلیکوزیدی در سویه‌های *اشریشیاکلی* جدا شده از عفونت دستگاه ادراری

فنوتیپ مقاومت	تعداد(درصد)	وجود ژن *ant(2")-Ia* تعداد (درصد)	وجود ژن *ant(4')-IIa* تعداد (درصد)
آمیکاسین	۱ (۱/۶۱)	۰ (۰)	۰ (۰)
توبرامایسین	۲۱ (۳۳/۸۷)	۰ (۰)	۱ (٤/۷٦)
کانامایسین	۵ (۸/۰٦)	۰ (۰)	۱ (۲۰)
جنتامایسین	٦ (۹/٦۷)	۲ (۳۳/۳۳)	۰ (۰)
آمیکاسین و توبرامایسین	۲ (۳/۲۲)	۰ (۰)	۱ (۵۰)
توبرامایسین و کانامایسین	٦ (۹/٦۷)	۳ (۵۰)	۱ (۱٦/٦٦)
توبرامایسین و جنتامایسین	۷ (۱۱/۲۹)	۳ (٤۲/۸۵)	۱ (۱٤/۲۸)
کانامایسین و جنتامایسین	۱ (۱/٦۱)	۰ (۰)	۰ (۰)
آمیکاسین،توبرامایسین و کانامایسین	۱ (۱/٦۱)	۰ (۰)	۱ (۱۰۰)
آمیکاسین،توبرامایسین و جنتامایسین	۱ (۱/٦۱)	۰ (۰)	۱ (۱۰۰)
کانامایسین،توبرامایسین و جنتامایسین	۸ (۱۲/۹۰)	۸ (۱۰۰)	۲ (۲۵)
آمیکاسین،کانامایسین،توبرامایسین و جنتامایسین	۲ (۳/۲۲)	۱ (۵۰)	۲ (۱۰۰)

AK(آمیکاسین)، TN (توبرامایسین)، K (کانامایسین)، GM (جنتامایسین)

بحث

عفونت دستگاه ادراری (UTI) به حضور پاتوژن‌ها در درون دستگاه ادراری اطلاق می‌شود که ممکن است با یا بدون علامت باشد و در تمام گروههای سنی رخ می‌دهد. از جمله باکتری‌های شایع در این عفونت می‌توان به اشریشیاکلی، پروتئوس ولگاریس، کلبسیلا پنومونیه، استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس، انتروباکتر، سیتروباکتر و سودوموناس آئروژینوزا اشاره نمود(۱۱). آمینوگلیکوزیدها ریبوزوم باکتری را مورد هدف قرار داده و در مرحله ترجمه پروتئین‌ها اختلال ایجاد می‌کنند. باکتری‌های مقاوم، توانایی تغییر در ساختار بیوشیمیایی آمینوگلیکوزیدها را به وسیله آنزیم‌های تغییر دهنده آمینوگلیکوزیدها(AMEs) از جمله ANT دارا هستند(۱۲). امروزه بروز و ظهور مقاومت نسبت به این آنتی‌بیوتیک‌ها تأثیر عمیقی در کاربرد بالینی‌شان داشته است(۱۳). لذا هدف از مطالعه حاضر بررسی میزان شیوع ژن‌های *ant(2")-Ia* و *ant(4')-IIa* عامل مقاومت آمینوگلیکوزیدی در سویه‌های *E.coli* جدا شده از UTI در شهرستان گراش است.

آمینوگلیکوزیدها به منظور درمان عفونت‌های ناشی از *اشریشیا کلی* استفاده می‌شوند، با این حال مقاومت در برابر این آنتی‌بیوتیک‌ها در سال‌های اخیر افزایش یافته است(۱٤). در مطالعه حاضر الگوی مقاومت آمینوگلیکوزیدی ۱۸۷ سویه *اشریشیا کلی* جدا شده از عفونت دستگاه ادراری بیماران مراجعه کننده به بیمارستان امیرالمومنین علی(ع) شهرستان گراش (استان فارس) مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج آزمون مقاومت آنتی‌بیوتیکی نشان‌دهنده وجود مقاومت در ٦۲ سویه(۳۳/۱۵ درصد) حداقل نسبت به یکی از آمینوگلیکوزیدهای مورد آزمایش بود. بیشترین میزان مقاومت در برابر توبرامایسین(۷۹/۰۳ درصد) و کمترین میزان مقاومت در مقابل آمیکاسین(۱۱/۲۹ درصد) مشاهده شد.

در مطالعه سلیمانی و همکاران، از میان۲۵۰ سویه *اشریشیا کلی* جدا شده از عفونت ادراری بیشترین میزان مقاومت به توبرامایسین(۹٦ درصد) و کمترین میزان مقاومت در برابر آمیکاسین(۸ درصد) گزارش شد(۱۵)، مطالعه این محققان با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد.

مومنی مفرد و همکاران، ۱۰۰سویه *اشریشیا کلی* جدا شده از عفونت دستگاه ادراری را به منظور الگوی مقاومت آمینوگلیکوزیدی مورد ارزیابی قرار دادند که بیشترین میزان مقاومت به جنتامایسین (۳۹ درصد) و بیشترین حساسیت را نسبت به آمیکاسین(۹۷ درصد) گزارش کردند(۱۲). میر و همکاران، ۷۱ سویه *اشریشیا کلی* به دست آمده از عفونت دستگاه ادراری را با هدف تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به آمینوگلیکوزیدها در هند مورد بررسی قرار دادند که بیشترین میزان مقاومت را نسبت به جنتامایسین(۷۳/٤ درصد) و بیشترین میزان حساسیت را در برابر آمیکاسین(۸/۱٦ درصد) گزارش کردند(۱٦). نتایج بررسی حاضر با

یافته‌های پژوهش‌های فوق از جهت بیشترین میزان حساسیت به آمیکاسین همخوانی دارد در حالی که از نظر بیشترین میزان مقاومت نسبت به جنتامایسین مغایرت دارد.

یافته‌های به دست آمده از بررسی حضور ژن‌های *ant(2")-Ia* و *ant(4')-IIa* در این پژوهش، نشان‌دهنده حضور ژن *ant(2")-Ia* در ۱۷ سویه(۲۷/۴۱ درصد) و ژن *ant(4')-IIa* در ۱۱ سویه(۱۷/۷۴ درصد) بود. سلیمانی و همکاران، از میان ۷۱ سویه *اشریشیا کلی* مقاوم به آمینوگلیکوزیدها حاصل از عفونت دستگاه ادراری وجود ژن *ant(2")-Ia* را در ۳۴ سویه(۴۷/۸۸ درصد) گزارش کردند(۱۷). تسوکاموتو و همکاران، با مطالعه بر روی ۴۷۸ سویه *اشریشیا کلی*، وجود ژن *ant(2")-Ia* را در ۲ سویه گزارش کردند(۱۸). در طی مطالعه مارتینز و همکاران، ۲۵۷ سویه *اشریشیا کلی* از ادرار جدا شد که ۱۰۵ سویه (۴۰/۸۵ درصد) نسبت به آمینوگلیکوزیدها مقاومت نشان دادند، از این بین ۲۹ سویه(۲۷/۶۱ درصد) دارای ژن *ant(2")-Ia* بودند در حالی که در هیچ‌کدام از سویه‌ها ژن *ant(4')-IIa* حضور نداشت(۴). اخی و همکاران، ۱۰۷ سویه *اشریشیا کلی* به دست آمده از عفونت ادراری را مورد بررسی قرار دادند. از این تعداد ۲۷ سویه(۲۵/۲۳ درصد) حداقل نسبت به یکی از آمینوگلیکوزیدها مقاوم بودند، ۱۸ سویه(۶۶/۶۷ درصد) آن نیز قادر به تولید کننده بتالاکتاماز طیف گسترده بودند که از میان این ۱۸ سویه، ۶ سویه (۳۳/۳۳ درصد) واجد ژن *ant(2")-Ia* بودند(۱۴). مطالعه ابواستات و همکاران بر روی ۸۸ سویه *اشریشیا کلی* صورت پذیرفت که ۱۵ سویه(۱۷/۰۴ درصد) مقاوم به آمینوگلیکوزید شناسایی شد، از این میان ۲ سویه(۱۳/۳۳ درصد) دارای ژن *ant(2")-Ia* بودند(۶). اجدانا و همکاران، با بررسی ۴۴ سویه *اشریشیا کلی* جدا شده از عفونت دستگاه ادراری، ۳۵ سویه(۷۹/۵۴ درصد) را نسبت به آمینوگلیکوزیدها مقاوم نشان دادند که ۲ سویه(۵/۷۱ درصد) واجد ژن *ant(2")-Ia* بودند و ژن *ant(4')-IIa* در هیچ کدام از سویه ها گزارش نگردید(۷).

یافته‌های برخی پژوهش‌های مشابه در ایران و جهان با نتایج مطالعه حاضر همسو بوده و در برخی موارد همخوانی وجود ندارد. با توجه به این که در پژوهش‌های مختلف از حجم نمونه مختلف و در مناطق جغرافیایی متفاوت انجام شده است، اختلاف نتایج به دست آمده از این پژوهش در مقایسه با یافته‌های مطالعه دیگران قابل توجیه می‌باشد.

از محدودیت‌های مطالعه حاضر می‌توان به انجام مطالعه تنها در یک مرکز درمانی و احتمال عدم جمع‌آوری صحیح نمونه به وسیله برخی بیماران اشاره نمود. بنابراین پیشنهاد می‌شود پزشکان و کادر درمانی تجویز آنتی‌بیوتیک جهت درمان عفونت‌های ادراری را بر اساس الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی انجام دهند تا از ایجاد مقاومت آنتی‌بیوتیکی ممانعت به عمل آید.

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج مطالعه حاضر سویه‌های *اشریشیاکلی* بیشترین میزان مقاومت را در مقابل توبرامایسین و کمترین مقاومت را در برابر آمیکاسین از خود نشان دادند. نتایج پژوهش حاضر نشان‌دهنده مقاومت نسبتاً محدود سویه‌های *اشریشیاکلی* جداشده از ادرار نسبت به آمینوگلیکوزیدها در منطقه مورد مطالعه است، در همین راستا جهت درمان عفونت‌های دستگاه ادراری با عامل *اشریشیا کلی* در شهرستان گراش می‌توان از آمینوگلیکوزیدها به ویژه آمیکاسین و کانامایسین استفاده نمود، مقاومت آنتی‌بیوتیکی یک تهدید جهانی برای سلامتی است. سهم مراقبت‌های بهداشتی اولیه در بروز مقاومت آنتی‌بیوتیکی بسیار مهم است چرا که تقریباً ۸۰ درصد از تمام آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده، در مراکز خدمات بهداشتی و درمانی تجویز می‌شوند.

تقدیر و تشکر

این مقاله حاصل طرح پژوهشی مصوب دانشکده علوم پزشکی گراش با کد اخلاق IR.GERUMS.REC.1396.1096 می‌باشد. از معاونت محترم تحقیقات و پرسنل بخش میکروب‌شناسی آزمایشگاه بیمارستان امیرالمومنین علی(ع) گراش که در انجام پژوهش حاضر ما را یاری نمودند، تشکر و قدردانی می‌گردد.

REFERENCES:

1.Kot B, Grużewska A, Szweda P, Wicha J, Parulska U. Antibiotic resistance of uropathogens isolated from patients hospitalized in district hospital in central poland in 2020. Antibiotics. 2021; 10(4): 447-60.
2.Soleimani N, Derakhshan S, Memariani M. Plasmid profile analysis of aminoglycoside-resistant escherichia coli isolated from urinary tract infections. Int J Enteric Pathog 2016; 4(2): e33806.
3.Krause KM, Serio AW, Kane TR, Connolly LE. Aminoglycosides: an overview. Cold Spring Harb Perspect Med 2016; 6(6): a027029.
4.Martínez MF, Miró E, Ortega A, Bou G, González-López JJ, Oliver A, et al. Molecular identification of aminoglycoside-modifying enzymes inclinical isolates of *Escherichia coli* resistant to amoxicillin/clavulanicacid isolated in Spain. Int J Antimicrob Agents 2015; 46(2): 157–63.
5.Baptista PV, McCusker MP, Carvalho A, Ferreira DA, Mohan NM, Martins M, et al. Nano-strategies to fight multidrug resistant bacteria "A Battle of the Titans". Front Microbiol 2018; 9: 1441.
6.Abo-State MM, Saleh YS, Ghareeb HM. Prevalence and sequence of aminoglycosides modifying enzymes genes among *E.coli* and *Klebsiella* species isolated from Egyptian hospitals. Journal of Radiation Research and Applied Sciences 2018; 11(4): 408–15.
7.Ojdana D, Sienko A, Sacha P, Majewski P, Wieczorek P, Wieczorek A, et al. Genetic basis of enzymatic resistance of *E. coli* to aminoglycosides. Adv Med Sci. 2018;63(1):9–13.
8.Alizade H. *Escherichia coli* in Iran: An overview of antibiotic resistance: A review article. Iran J Public Health 2018; 47(1): 1-12.
9.Zárate SG, Claure MC, Arenas RB, Revuelta J, Santana AG, Bastida A. Overcoming Aminoglycoside Enzymatic Resistance: Design of Novel Antibiotics and Inhibitors. Molecules 2018; 23(2): 284-301.
10.Maynard C, Bekal S, Sanschagrin F, Levesque RC, Brousseau R, Masson L, et al. Heterogeneity among virulence and antimicrobial resistance gene profiles of extraintestinal *escherichia coli* isolates of animal and human origin. J Cli Microbiol 2004; 42(12): 5444–52.
11.Komala M, Kumar KS. Urinary tract infection: causes, symptoms, diagnosis and it's management. Indian Journal of Research in Pharmacy and Biotechnology 2013; 1(2): 226-33.
12.Momeni Mofrad S, Goudarzi G, Shakib P, Nowroozi J. Prevalence of *aac(3)-IIa* gene among clinical isolates of uropathogenic *Escherichia coli* in Delfan, Lorestan. Iran J Med Microbiol 2013; 7(2): 20-26.
13.Tavakol M, Momtaz H. Detection of the most prevalent antibiotic resistance genes in *Acinetobacter baumannii* strains isolated from hospital infections and determination of their antibiotic resistance pattern. Biological Journal of Microorganism 2015; 4(14): 71-82.
14.Akhi MT, Ghotaslou R, Asgharzadeh M, Pirzadeh T, Asghari B, Memar MY, et al. Evaluation of aminoglycosides resistance genes among beta lactamaseproducing *Escherichia coli*. IIOABJ 2016; 7(4): 28-33.
15.Soleimani N, Sattari M, Broumand MA, Sepehri Seresh S. A molecular study of *aac(3)–IIa (aacC2)* gene in aminoglycoside resistant *Escherichia coli* isolated from urine. mjms 2010; 13(3): 23-30.
16.Mir AR, Bashi Y, Dar FA, Sekhar M. Identification of Genes Coding Aminoglycoside Modifying Enzymes in *E. Coli* of UTI Patients in India. Scientific World Journal 2016; 2016: 1875865.
17.Soleimani N, Aganj M, Liaqat A, Shokoohizadeh L, Sakinc T. Frequency distribution of genes encoding aminoglycoside modifying enzymes in uropathogenic *E. coli* isolated from Iranian hospital. BMC Res Notes 2014; 7:842-46.
18.Tsukamoto N, Ohkoshi Y, Okubo T, Sat T, Kuwahara O, Fujii N, et al. High prevalence of cross-resistance to aminoglycosides in fluoroquinolone-resistant *escherichia coli* clinical isolates. Chemotherapy 2013; 59(5): 379–84.

Armaghane-danesh, Yasuj University of Medical Sciences Journal (YUMSJ)

Original Article

Evaluation of Aminoglycoside Resistance *Ant(2'')-Ia* and *Ant(4')-IIa* Genes in *Escherichia coli* Strains Isolated from Urinary Tract Infection

Jabrodini A[1*], Taghavi SF[1], Heidari F[2]

[1]Department of Laboratory Sciences, Gerash University of Medical Sciences, Gerash, Iran, [2]Department of Nursing, Gerash University of Medical Sciences, Gerash, Iran

Received: 18 Oct 2021 Accepted: 15 Nov 2021

Abstract:

Background & aim: About 40% of women and 12% of men experience a urinary tract infection at least once in their lifetime. Aminoglycosides are very effective antimicrobial agents. The emergence and spread of antibiotic resistance in *Escherichia coli* (*E. coli*) is becoming a global public health concern. The aim of this study was to determine the presence of *ant(2'')-Ia* and *ant(4')-IIa* genes in *E. coli* strains isolated from urinary tract infections.

Methods: This cross-sectional study was performed on 187 strains of *Escherichia coli* isolated from urine specimens of patients referred to Amir Al-Momenin Ali Hospital in Gerash city (Fars province) from June 2020 to June 2021. The pattern of antibiotic resistance to tobramycin, gentamicin, kanamycin and amikacin by disk diffusion method was investigated. PCR method was used to evaluate the presence of *ant(2'')-Ia* and *ant(4')-IIa* genes**.** Chi-square test was used for data analysis.

Result: Out of 187 strains studied, 62 strains (33.15%) were resistant to aminoglycosides. The highest and lowest aminoglycoside resistance was observed against tobramycin (79.03%) and amikacin (11.29%), respectively. Two strains (3.22%) were resistant to all aminoglycosides. *ant(2'')-Ia* and *ant(4')-IIa* genes were identified in 17 strains (27.41%) and 11 strains (17.74%), respectively.

Conclusion: The results of the present study show that *Escherichia coli* strains isolated from urinary tract infections have relatively low resistance to common aminoglycosides. For the initial treatment of urinary tract infections caused by *Escherichia coli* in Gerash city, the use of amikacin and kanamycin antibiotics is recommended.

Keyword: *Escherichia coli*, Urinary Tract Infection, Aminoglycosides, *ant(2'')-Ia gene*, *ant(4')-IIa* gene

[*]**Correspondence Author: Jabrodini A**, Department of Laboratory Sciences, School of Paramedicine, Gerash University of Medical Sciences, Gerash, Iran.
Email: Ahmad.jabrodini@gmail.com

Please cite this article as follows: Jabrodini A, Taghavi SF, Heidari F. Evaluation of Aminoglycoside Resistance *Ant(2'')-Ia* and *Ant(4')-IIa* Genes in *Escherichia coli* Strains Isolated from Urinary Tract Infection. Armaghane-danesh 2022; 27(2):196-206.