تحقیقی

دارای رتبه علمی – پژوهشی
از کمیسیون نشریات علوم پزشکی کشور

فراوانی ژن های *aac(3)-II a, aph(3)-I a* و*ant(2)* در جدایه های *اشریشیاکلی* یوروپاتوژنیک

غلامرضا گودرزی
استادیارگروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران

پگاه شکیب
کارشناس ارشد میکروبیولوژی، گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران

مریم لشکرآرا
دانشجوی کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم، ایران

نویسنده مسئول: غلامرضا گودرزی

پست الکترونیک: Goudarzi.gh@gmail.com

تلفن: ۰۹۱۲۷۱۰۰۵۵۲

آدرس: خرم آباد، کیلومتر۳ جاده بروجرد، پردیس کمالوند دانشگاه علوم پزشکی لرستان، دانشکده پزشکی، گروه میکروب شناسی

دریافت:۹۳/۱/۳۰
ویرایش پایانی:۹۳/۲/۲۸
پذیرش:۹۳/۲/۳۱

چکیده

زمینه و هدف: *اشریشیاکلی به عنوان یکی از شایع ترین عوامل مسبب عفونت های ادراری اکتسابی از جامعه و بیمارستانی، مقاومت چندگانه‌ای به آنتی بیوتیک های مختلف از جمله آمینوگلیکوزیدها پیدا کرده است. مکانیسم اصلی مقاومت به آمینوگلیکوزیدها، غیر فعال سازی این داروها توسط طیفی از آنزیم های استیل ترانسفراز، نوکلئوتیدیل ترانسفراز و فسفوترانسفرازها می‌باشد. در این مطالعه، فراوانی مقاومت به برخی از آمینوگلیکـــوزیدهای مهم و همچنین توزیع ژن های aac(3)-IIa, aph(3)-Ia و ant(2)-Ia در بین جدایه های اشریشیاکلی یوروپاتوژنیک بدست آمده از بیماران مبتلا به عفونت ادراری ارزیابی شد.*

روش بررسی: *حساسیت ضد میکروبی ۲۰۰ جدایه یوروپاتوژنیک اشریشیاکلی از بیماران سرپایی و بستری در بیمارستان، علیه ۹ آنتی بیوتیک به روش انتشار از دیسک ارزیابی شد. سپس توزیع ژن های aac(3)-IIa, aph(3)-Ia و ant(2)-Ia به روش PCR تعیین گردید.*

یافته ها: *۳۹ درصد ازجدایه های بدست آمده از بیماران بستری (n=۱۰۰) و ۱۹ درصد جدایه های بدست آمده از بیماران سرپایی(n=۱۰۰)، حداقل به یک آمینوگلیکوزید مورد آزمایش مقاوم بودند (۵۸ جدایه). در بین جدایه های مورد آزمایش (n=۲۰۰)، ۱۹/۵، ۱۳، ۷/۵ و ۴/۵ درصد به ترتیب به جنتامیسین، کانامایسین، نئومایسین و آمیکاسین مقاوم بودند. شایع ترین ژن در بین جدایه های مقاوم به حداقل یک آمینوگلیکوزید (n=۵۸)، aac(3)-IIa (۶۵/۵٪) و سپس aph(3)-Ia (۲۵/۸٪) بود. همچنین ژن ant(2)-Ia در هیچکدام از جدایه ها مشاهده نشد.*

نتیجه گیری: *حضور ژن aac(3)-IIa با مقاومت به جنتامیسین رابطه معناداری دارد (۱۰۰٪، p<۰/۰۵). به دلیل توزیع نسبتاً بالای ژن aac(3)-IIa در بین جدایه های اشریشیاکلی یوروپاتوژنیک، استفاده از آمینوگلیکوزیدهایی چون آمیکاسین در شرایط بالینی برای درمان عفونت های ادراری توصیه می گردد.*

واژه های کلیدی: *اشریشیاکلی، عفونت های مجاری ادراری، آنزیم های تغییر دهنده آمینوگلیکوزیدها*

آدرس مقاله:
گودرزی غ ر، شکیب پ، لشکرآرا م" فراوانی ژن های *aac(3)-II a, aph(3)-I a* و*ant(2)* در جدایه های *اشریشیاکلی* یوروپاتوژنیک" مجله علوم آزمایشگاهی، پاییز ۱۳۹۳، دوره هشتم(شماره۳): ۶۷-۶۱

مقدمه

عفونت مجاری ادراری(Urinary Tract Infection=UTI) یکی از شایع ترین دلایل مراجعه بزرگسالان به کلینیک های پزشکی است و همچنین از مهمترین موارد عفونت های بیمارستانی محسوب می شود(۱). اشریشیاکلی، شایع ترین عامل بیماری زایی است که در بیش از ۸۰ درصد موارد از بیماران سرپایی مبتلا به عفونت ساده مثانه (Uncomplicated cystitis) جدا می شود (۳،۲). درمان UTIتوسط آنتی بیوتیک‌هایی که مستقیماً برروی باکتری های عامل بیماری موثرند انجام می پذیرد. از جمله این آنتی بیوتیک ها آمینوگلیکوزیدها می باشند. اهمیت بالینی آمینوگلیکوزیدها از آن نظر است که وسیع الطیف بوده و علیه بسیاری از باکتری ها گرم منفی و در ترکیب با دیگر آنتی‌بیوتیک ها، بر روی گرم مثبت هایی چون استافیلوکوک ها نیز موثرند(۴). آمینوگلیکوزیدها با اتصال به زیر واحد۱۶S rRNA باعث مهار سنتز پروتئین ها شده و در نتیجه باعث مرگ باکتری ها می گردند (۵،۶). مقاومت اکتسابی به آمینوگلیکوزیدها، هم در باکتری گرم منفی و هم در باکتری گرم مثبت گزارش شده است (۷). غیرفعال سازی آنزیماتیک دارو، تغییر در جایگاه ریبوزومی اتصال دارو و کاهش در نفوذپذیری، سه مکانیسم مقاومت باکتری ها به آنتی بیوتیک های آمینوگلیکوزیدی است(۸). در این بین، اصلی ترین راه مقاومت به این داروها در باکتری های گرم منفی و مثبت، غیرفعال سازی توسط آنزیم های آمینوگلیکوزید استیل ترانسفرازها(AACs)، آمینوگلیکوزید نوکلئوتیدیل ترانسفرازها(ANTs) و آمینوگلیکوزید فسفوترانسفرازها(APHs) می باشد که به ترتیب توسط ژن های متنوع *aac*، *ant* و*aph* کد می شوند (۱۰،۹،۸). اگرچه ژن های مذکور دارای تنوع زیادی می باشند ولی مطالعات پیشین نشان می دهند که ژن های *aac(3)-IIa*، *aph(3)-Ia* و *ant(2)-Ia*ازجمله شایع ترین ژن های کد کننده" آنزیم های تغییردهنده آمینوگلیکوزیدها (Aminoglycoside-Modifying Enzymes=AMEs) می باشند (۱۱،۸). باتوجه به اهمیت این داروها در درمان عفونت ها و نیز دخالت ژن ها در توسعه مقاومت به این آنتی بیوتیک ها، هدف این مطالعه بررسی فراوانی سه ژن *aac(3)-IIa*، *aph(3)-Ia* و *ant(2)-Ia* و ارتباط آنها با فنوتیپ مقاومت به آمینوگلیکوزیدهای مختلف در بین جدایه های *اشریشیا کلی* یوروپاتوژنیک بود.

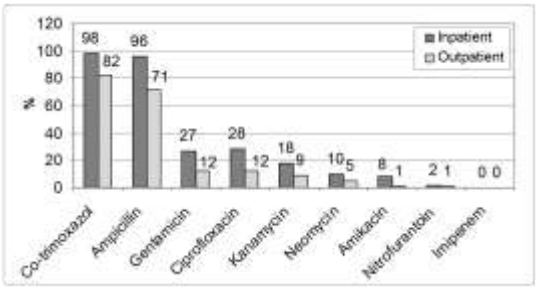
روش بررسی

تعداد ۱۰۰ سویه *اشریشیاکلی* جدا شده از بیماران مبتلا به عفونت ادراری مراجعه کننده به درمانگاه(سرپایی) و تعداد ۱۰۰ سویه *اشریشیاکلی* جدا شده از بیماران مبتلا به عفونت ادراری بستری(بیمارستانی) در بیمارستان امام خمینی شهرستان سلسله در استان لرستان در سال ۱۳۹۰ جمع آوری شدند. ایزوله های جدا شده با انجام تست های افتراقی بیوشیمیایی تعیین هویت گردیدند(۱۲). همچنین دو جدایه اشریشیا کلی، حاوی ژن های *aac(3)-IIa*، *aph(3)-Ia* و *ant(2)-Ia* به عنوان شاهد مثبت از گروه باکتری شناسی دانشگاه تربیت مدرس تهیه گردید. حساسیت جدایه ها به آنتی بیوتیک های آمپی سیلین (10µg)،ایمی پنم (10µg)، جنتامیسین (10µg) ،کانامایسین(30µg) ،نئومایسین (10µg)،آمیکاسین(30µg)، نیتروفورانتوئین (300µg)، سیپروفلوکساسین (5µg) وکوتریموکسازول(25µg) تهیه شده از شرکتMAST انگلیس به روش انتشار از دیسک (کربی- بوئر) و بر اساس دستورالعمل های CLSI انجام پذیرفت (۱۳). قبل از استخراج DNA، جدایه های مورد آزمایش در محیط LB (Luria Bertani) براث کشت داده شدند و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۱۸ ساعت گرماگذاری شدند.سپس DNA نمونه ها با استفاده ازکیت (*AccuPrep*® Genomic DNA Extraction Kit (Bioneer, Korea مطابق روش کار شرکت سازنده استخراج شد. ژن های *aac(3)-IIa*، *aph(3)-Ia* و *ant(2)-Ia* به کمک سه جفت پرایمر اختصاصی

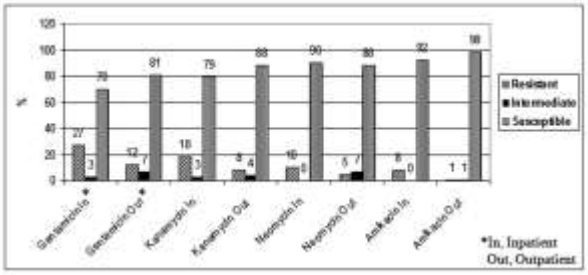
(Maynard و همکاران)، در واکنش های PCR مجزا، با حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر تکثیر شدند(۱۴،۱۱). برنامه تکثیر با دناتوراسیون اولیه ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه، چرخه ها (۳۰ چرخه) شامل دناتوراسیون رشته ها در ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱ دقیقه، اتصال پرایمرها در ۶۲ درجه سانتی گراد به مدت ۱ دقیقه و طویل شدن رشته ها در ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۱ دقیقه و طویل شدن نهایی در ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه انجام پذیرفت. درنهایت محصولات PCR در کنار مارکر ۱۰۰bp بر روی ژل آگارز ۱ درصد الکتروفورز شدند(۱۴،۱۱). داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS 16 به صورت درصد فراوانی و ارتباط بین فنوتیپ مقاومت به آمینوگلیکوزیدهای مورد آزمایش و حضور ژن ها با آزمون Chi-square مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. در تمامی موارد p value کمتر از ۰/۰۵ معنی دار تلقی گردید.

یافته ها

در بین ۲۰۰ نمونه جدا شده از بیماران بستری و سرپایی، بیشترین میزان مقاومت نسبت به کوتریموکسازول وکمترین مقاومت نسبت به نیتروفورانتوئین مشاهده شد و همچنین مقاومت به ایمی پنم در هیچکدام از جدایه ها مشاهده نگردید(شکل۱). همچنین دربین جدایه های بیمارستانی ۳۹ درصد و در جدایه های سرپایی۱۹ درصد حداقل نسبت به یکی از آمینوگلیکوزیدهای مورد آزمایش در روش انتشار از دیسک مقاومت نشان دادند. بیشترین مقاومت نسبت به جنتامیسین مشاهده شدکه در نمونه های بیمارستانی و سرپایی به ترتیب ۲۷ و ۱۲ درصد بود. کمترین میزان مقاومت نسبت به آمیکاسین در نمونه های بیمارستانی و سرپایی به ترتیب ۸ و۱ درصد گزارش گردید. همچنین ۱۲/۵درصد از کل جدایه ها نسبت به آمینوگلیکوزیدهای مورد آزمایش فنوتیپ حد واسط نشان دادند (شکل۲).



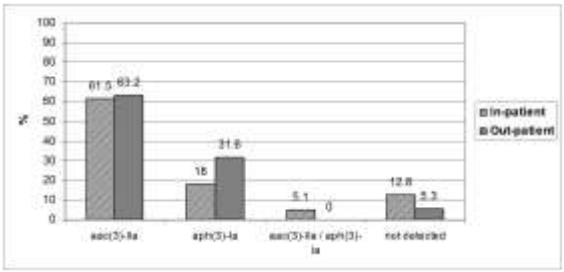
شکل ۱- فراوانی مقاومت آنتی بیوتیکی در بین *اشریشیا کلی های* جدا شده از ادرار بیماران



شکل ۲- فراوانی انواع فنوتیپ‌های حساسیتی به آمینوگلیکوزیدها، در بین *اشریشیا کلی* های جداشده از ادرار بیماران

نتایج PCR نشان داد (شکل۱)که کلیه جدایه های با فنوتیپ حساس و حد واسط به آنتی‌بیوتیک های آمینوگلیکوزیدی، فاقد ژن های *aac(3)-IIa* , *aph(3)-Ia* و *ant(2)- Ia* می باشند. در جدایه های مقاوم ۳۶ جدایه (۶۲٪) و ۱۳ جدایه (۲۲/۴٪) به حداقل یک آمینوگلیکوزید (*n*=۵۸)، به ترتیب فقط دارای ژن *aac(3)-IIa* و *aph(3)-Ia* بودند. همچنین در بین آنها، دو جدایه (۳/۴٪) همزمان حاوی ژن های مذکوربودند. این در حالی بود که ژن *ant(2)- Ia* در هیچکدام از جدایه های مورد آزمایش مشاهده نگردید(شکل۳).

حضور ژن *aac(3)-II a* به طور کامل با فنوتیپ مقاومت به جنتامیسین مرتبط بود (p<۰/۰۵). به طوری که این ژن در همه جدایه های بیمارستانی و سرپایی که به جنتامیسین مقاوم بودند مشاهده شد (۱۰۰٪). از طرفی ارتباط حضور ژن *aph(3)-Ia* با فنوتیپ مقاومت به کاناماسین و نئومایسین نیز از نظر آماری معنادار بود(p<۰/۰۵). همچنین جدایه های با فنوتیپ مقاوم به آمیکاسین (۹ جدایه) فاقد سه ژن مورد بررسی بودند.



شکل۳- فراوانی ژن های *aac(3)-IIa* و *aph(3)-Ia* در بین اشریشیا کلی های جداشده از ادرار حداقل مقاوم به یک آمینوگلیکوزید [بیماران سرپایی (*n*=۱۹) و بستری (*n*=۳۹)]

بحث

نتایج ارزیابی حساسیت میکروبی در این مطالعه نشان داد که میزان مقاومت در بین جدایه های بیمارستانی بسیار بیشتر از سویه های جدا شده از بیماران سرپایی است که در برخی از موارد این مقاومت به بیش از دو برابر هم می رسید. آنتی بیوتیک هایی چون آمپی سیلین و کوتریموکسازول که به توصیه WHO زمانی جز داروهای خط اول درمان UTI محسوب می شدند با شکست درمانی بالایی مواجه اند. متاسفانه مقاومت به کوتریموکسازول که داروی خوراکی ارزان و در دسترسی می باشد عموماً با مقاومت به آمپی سیلین، سفالوتین و تتراسیکلین نیز همراه است. که بنظر می رسد چنین مقاومت چندگانه ای به دلیل انتقال یک پلاسمید اتفاق می افتد. افزایش مقاومت به آنتی بیوتیک های مذکور در سایر مناطق ایران نیز به اثبات رسیده است (۱۵- ۱۸). در بین آمینوگلیکوزیدها، بیشترین مقاومت به جنتامیسین (۲۷٪ بستری، ۱۲٪سرپایی) و کمترین میزان مقاومت به آمیکاسین (۸٪ بستری و ۱٪ سرپایی) بود. نتایج مطالعه مشابه‌ای که ما در سال ۸۹ بر روی ۱۰۰ جدایه اشریشیاکلی یوروپاتوژنیک جدا شده از بیماران بستری شهرستان دلفان لرستان (همجوارشهرستان سلسله) انجام شدنشان داد که ۶۰ درصد از جدایه ها حداقل نسبت به یکی از آمینوگلیکوزیدها مقاوم بودند که بطور مشابه‌ای در این مطالعه نیز بیشترین میزان مقاومت به جنتامیسین (۳۹ ٪) و کمترین مقاومت به آمیکاسین (۱٪) بدست آمده (۱۱). در مطالعه دیگری نیز توسط Japoni و همکاران در شیراز، ۱۸ درصد و ۸/۵ درصد از جدایه ها به ترتیب به جنتامیسین و آمیکاسین مقاوم بودند (۱۹). در این مطالعه ، فراوان ترین ژن کد کننده AMEs درهر دو سری جدایه های بیمارستانی و سرپایی مقاوم به حداقل یک آمینوگلیکوزید، ژن*aac(3)-II a* بود و پس از آن ژن *aph(3)-I a* بیشترین فراوانی را داشت. نتایج مطالعه Kong و همکاران (۲۰۰۶) بر روی ۴۴ جدایه

بالینی *اشریشیاکلی* نشان داد که ژن *aac(3)-II a* بالاترین فراوانی(۵۲/۲۷٪) را داشته و باعث مقاومت به جنتامیسین و توبرامایسین می گردد (۲۰). در مطالعه حاضرنیز بالاترین فراوانی ژن *aac(3)-II a* دربین جدایه های با فنوتیپ مقاوم به جنتامیسین مشاهده شد. همچنین ژن *aph(3)-I a* در ارتباط با فنوتیپ مقاوم به کانامایسین و نئومایسین بود. بین نتایج به دست آمده از مطالعه اخیر و سایر مطالعات انجام شده هماهنگی وجود دارد، به گونه‌ای که در مطالعه قبلی بر روی جدایه های اشریشیاکلی یوروپاتوژنیک شهرستان دلفان نیز ژن*aac(3)-II a* بیشترین فراوانی را داشت (۴۴٪) و ارتباط آن با مقاومت به جنتامیسین به اثبات رسید (۱۱). همچنین در مطالعه Maynard و همکاران در سال ۲۰۰۴، ژن *aac(3)-II a* در ۱۷درصد از جدایه‌های حیوانی و ۳۳ درصد از ایزوله های انسانی مقاوم به جنتامایسین مشاهده شد. همچنین ژن *aph(3´)-Ia* در ۶/۹۷ درصد ازاجدایه‌های حیوانی و ۴ درصد از ایزوله‌های انسانی مقاوم به کانامایسین و همینطور در ۸ درصد از ایزوله حیوانی و ۷/۰۴ درصد از ایزوله‌های انسانی مقاوم به نئومایسین مشاهده گردید (۱۴). Jakobsen و همکاران در سال ۲۰۰۷ با مطالعه بر روی ۱۲۰ اجدایه *اشریشیاکلی*، ۵۲ جدایه (۴۳/۳٪) را از نظر حضور ژن*aac(3)-II a* مثبت گزارش کردند (۲۱). همچنین Xiao و همکاران در چین (۲۰۰۹– ۲۰۰۸)، پس از بررسی ۱۲ ژن ازآنزیم های تغییردهنده آمینوگلیکوزیدها، شایع ترین ژن در جدایه های *اشریشیا کلی* را *aac(3)-II a* (۷۹٪) بدست آورند (۸). نتایج تنها مطالعه مستند در ایران (تهران) توسط سلیمانی و همکاران، نشان داد که بیشترین مقاومت نسبت به توبرامایسین (۹۶٪) وکمترین مقاومت نسبت آمیکاسین (۸٪) می باشد. همچنین در این مطالعه همانند نتایج مطالعه اخیر، شایع ترین ژن، *aac(3)-II a* (۵۴/۸٪) گزارش شده و ارتباط آن با فنوتیپ مقاومت به جنتامایسین وتوبرامایسین معنادار بود(۲۲). از مطالعات انجام شده استنباط می‌شود که میزان شیوع ژن های مورد نظر افزایش یافته و تفاوت در فراوانی ژن ها عمدتاً به دلیل تفاوت در توزیع جغرافیایی کلون های مقاوم به آنتی بیوتیک و همچنین حجم نمونه های مورد آزمایش می باشد. در نتیجه، تعیین میزان شیوع این آنزیم‌ها در کشورهای مختلف حائز اهمیت می‌باشد و نیاز به بررسی منطقه ای دارد.

نتیجه گیری

حضور ژن aac(3)-IIa با مقاومت به جنتامیسین رابطه معناداری دارد (۱۰۰٪، p<۰/۰۵). به دلیل توزیع نسبتاً بالای ژن aac(3)-IIa در بین جدایه های اشریشیاکلی یوروپاتوژنیک شهرستان سلسله، استفاده از آمینوگلیکوزیدهایی چون آمیکاسین در شرایط بالینی برای درمان عفونت های ادراری توصیه می گردد.

تشکر و قدر دانی

بدین وسیله نویسندگان از همکاری معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی لرستان و کارکنان مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی تشکر می نمایند.

References

1.Gastmeier P, Kampf G, Wischnewski N, Hauer T, Schulgen G, Schumacher M, Daschner F, Ruden H. *Prevalence of nosocomial infections in representative German hospitals*. J Hosp Infect. 1998; 38: 37–49.

2.Gupta K, Hooton TM, Stamm WE. *Increasing antimicrobial resistance and the management of uncomplicated community acquired urinary tract infections*. Ann Intern Med. 2001; 135: 41–50.

3.Wagenlehner FME, Naber KG. *Antibiotics and Resistance of Uropathogens*. EAU Update Series 2 2004: 125–135.

4.Kumar AR, Zarychanski B, Light J, Parrillo D, Maki D. *Early combination antibiotic therapy yields improved survival compared with monotherapy in septic shock: A propensity-matched analysis*. Crit Care Med. 2010; 38:1773–1785.

5.Mingeot-Leclercq MP, Glupczynski Y, Tulkens PM. *Aminoglycosides: Activity and Resistance*. Antimicrob Agent Chemother. 1999; 43: 727-737

6.Vakulenko SB, Mobashery S. *Versatility of Aminoglycosides and Prospects for Their Future*. Clin Microbiol Rev. 2003; 16: 430-450.

7.Udo EE, Dashti AA. *Detection of genes encoding aminoglycoside-modifying enzymes in staphylococci by polymerase chain reaction and dot blot hybridization*. Int J Antimicrob Agents. 2000; 13: 273-279.

8.Xiao Y, Hu Y. The Major *Aminoglycoside-Modifying* Trends Microbiol. 2004; 12(9): 412-416.

Enzyme AAC(3)-II Found in Escherichia coli Determines a Significant Disparity in Its Resistance to Gentamicin and Amikacin in China. Microb Drug Resist. 2012; 18(1): 42-46.

9.Vaziri F, Peerayeh SN, Behzadian Nejad Q, Farhadian A. *The prevalence of aminoglycoside-modifying enzyme genes (aac (6΄)-I, aac (6΄)-II, ant (2˝)-I, aph (3΄)-VI) in Pseudomonas aeruginosa*. Clinics. 2011; 66(9):1519-1522.

10.Yadegar A, Sattari M, Amir Mozafari N, Goudarzi Gh. *Prevalence of the Genes Encoding Aminoglycoside-Modifying Enzymes and Methicillin Resistance Among Clinical Isolates of Staphylococcus aureus in Tehran, Iran*. Microb Drug Resist. 2009; 15(2): 109-114.

11.Momeni Mofrad, Goudarzi Gh, 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.

12.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; 211-238.

13.Clinical and laboratory Standards Institute (CLSI). *Performance Standards for antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-First ed. Informational Supplement M100-S21*. Wayne, PA, USA: CLSI; 2010.

14.Maynard C & Bekal S. *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.

15.Salyers AA, Gupta A, Wang Y. *Human intestinal bacteria as reservoirs for antibiotic resistance genes* .

16.Qadri F, Svennerholm AM, Faruque ASG, Bradley Sack R. *Enterotoxigenic Escherichia coli in Developing Countries: Epidemiology, Microbiology, Clinical Features, Treatment, and Prevention.* Clin Microbiol Rev. 2005; 18(3): 465-483.

17.Salyers A, Whitt D. *Bacterial pathogenesis, a molecular approach*. 2th ed. Washington DC, ASM press. 2002; 422-436.

18.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):42-46.

19.Japoni A, Gudarzi M, Farshad S, Basiri E, Ziyaeyan M, Alborzi A, 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): 85-88.

20.Kong HS, Li XF, Wang JF, Wu MJ, Chen X, Yang Q. *Evalution of aminoglycoside resistance phenotypes and genotyping of acetyl transferase in Escherichia coli*. J Zhejiang. 2006; 35(1): 83-86.

21.Jakobsen L, Sandvag D, Jensen VF, Seyfarth AM, Frimodt-Møller M, Hammerum AM. *Gentamicin susceptibility in Escherichia coli related to the genetic background: problems with breakpoints*. Clin Microbiol Infec. 2007; 13(8): 816-842.

22.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. Modares J Med Sci Patho. 2010; 3(13): 23-30.

Prevalence of *aac(3)-IIa, aph(3)-Ia* and *ant(2)- Ia* Genes among Uropathogenic *Escherichia Coli* Isolates

Goudarzi, Gh. (PhD)
Assistant Professor of Microbiology, School of Medicine, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, Iran

Shakib, P. (MSc)
MSc of Microbiology, Department of Microbiology, School of Medicine, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, Iran

Lashkarara, M. (BSc)
MSc Student of Microbiology, School of Basic Sciences, Islamic Azad University of Qom, Iran

Corresponding Author: Goudarzi, Gh.

Email: Goudarzi.gh@gmail.com

Received: 19 Apr 2014
Revised: 8 May 2014
Accepted: 21 May 2014

Abstract

Background and Objective: *Escherichia coli,* one of the most common causative agents of urinary tract infections (UTIs) acquired from community and hospital, has developed multiple resistances to various antibiotics such as aminoglycosides. The main resistance mechanism to aminoglycosides is inactivation of these drugs by a variety of acetyltransferase, nucleotidyltransferase, and phosphotransferase enzymes. this study aimed to assess the prevalence of resistance to some important aminoglycosides as well as the distribution of *aph(3)-Ia, aac(3)-IIa* and *ant(2)-Ia* genes among uropathogenic *Escherichia coli* isolates obtained from patients suffering UTIs.

Material and Methods: Using the disk diffusion method, the antimicrobial susceptibility of 200 uropathogenic *E. coli* isolates collected from outpatients and inpatients was investigated to nine antibiotics. Then, the distribution of *aac (3)-IIa, aph (3)-IA* and *ant (2)-IA* genes was determined by PCR method.

Results: Thirty-nine percent of *E.coli* isolates obtained from inpatients (n=100) and 19% of those from outpatient (n=100) demonstrated resistance to at least one of the tested aminoglycosides (i.e. 58 isolates). Among the isolates examined (n=200), 19.5%, 13%, 7.5% and 4.5% were resistant to gentamicin, kanamycin, neomycin and amikacin, respectively. The most prevalent gene among the strains resistance to at least one of the aminoglycosides (n=58) was aac (3)-IIa (65.5%), followed by *aph (3)-IA* (25.8%). Also, the *ant (2)-IA* gene was not seen in any isolates.

Conclusion: The presence of *aac (3)-IIa* gene is significantly associated with gentamicin resistance (100%, $p<0.05$). Because of relatively high distribution of the *aac (3)-IIa* gene among uropathogenic E.coli, the use of aminoglycosides such as amikacin to treat UTI in clinical setting is recommended.

Keywords: *Escherichia Coli*, Urinary Tract Infections, Aminoglycoside-Modifying Enzymes (AMEs)

This paper should be cited as: Goudarzi Gh, Shakib P, Lashkarara M. [Prevalence of aac(3)-IIa, aph(3)-Ia and ant(2)- Ia Genes among Uropathogenic Escherichia Coli Isolates]. mljgoums 2014; 8(3):61-67 [Article in Persian]