

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

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 از جمله آمینوگلیکوزیدها نشان می‌دهند. 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 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 آنتی‌بیوتیکی، 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

مقدمه

Enzymes: AMEs) را دارا هستند. گزارش‌های بسیاری از AME‌های گوناگون در سراسر دنیا وجود دارند. توسعه مقاومت آنتی‌بیوتیکی خصوصاً مقاومت به آمینوگلیکوزیدها که با واسطه پلاسمید عمل می‌کنند سریعاً باعث انتقال ژن مقاومت به سایر باکتری‌ها از جمله باکتری‌های گرم منفی گردیده و ارگانیزم‌ها را نسبت به درمان مقاوم می‌کند.^{۱۰،۹}

ساختار مولکولی آمینوگلیکوزیدها

آمینوگلیکوزیدها، ترکیبی از گروه‌های آمینو و گروه‌های فنیدی می‌باشند. این آنتی‌بیوتیک‌ها دارای یک حلقه شش عضوی آمینوسیکلitol می‌باشند که به این حلقه گروه‌های آمینو و هیدروکسیل متصل است.^{۱۱} این آنتی‌بیوتیک‌ها باکتریوسیدال بوده و برحسب حلقه آمینوسیکلitol، به دو گروه کلی تقسیم می‌شوند:

۱- آمینوگلیکوزیدهایی که حلقه آمینوسیکلitol آن‌ها، استرپتیدین می‌باشد مانند استرپتوماپسین و دی هیدرو استرپتوماپسین.

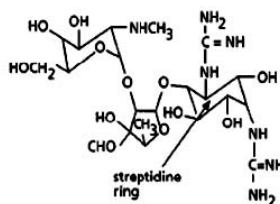
۲- آمینوگلیکوزیدهایی که حلقه آمینوسیکلitol آن‌ها، داکسی استرپتامین می‌باشد. در اغلب آمینوگلیکوزیدهایی که مورد استفاده بالینی دارند، حلقه ۲-داکسی استرپتامین در موقعیت‌های ۶ و ۴ (جتتامیسین، تورامایسین، آمیکاسین و نتیل‌مایسین) و ۵ و ۴ (پارامومایسین، ریبوستامایسین و نتومایسین) توسط گروه‌های مختلفی چون آمینوگروزها و پنتوزها جایگزین می‌شود.^{۱۲،۱۳}

در شکل ۱ تفاوت ساختاری بین دودسته فوق مشخص شده است.

آمینوگلیکوزیدها خانواده‌ای از عوامل آنتی‌باکتریال هستند که با اتصال به 30s ریبوزوم مانع از سنتز پروتئین‌سازی می‌گردند. آمینوگلیکوزیدهای اولیه محصولات طبیعی گروه بزرگی از باکتری‌های خاک به نام اکتینومیسیت‌ها، مخصوصاً گونه‌های دو جنس استرپتوماپسین و میکرومونوسپورا می‌باشند که دارای بار مثبت بوده و حاوی چندین گروه آمینو در ساختار گلیکوزیدی‌شان هستند.^{۱۵} اهمیت بالینی این خانواده آنتی‌بیوتیکی 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 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 سینرژستی 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 غیر فعال‌سازی آنزیماتیک دارو، مسئول مقاومت به آمینوگلیکوزیدها می‌باشند.^{۱۶،۱۷} از این بین غیر فعال‌سازی آنزیماتیک آمینوگلیکوزیدها توسط آنزیم‌های تغییردهنده‌ی آن‌ها، اصلی‌ترین مکانیسم مقاومت به این داروها در باکتری‌ها می‌باشد. سوبه‌های مقاوم توانایی تغییر در ساختار بیوشیمیایی آمینوگلیکوزیدها را توسط آنزیم‌های تغییردهنده آمینوگلیکوزیدها (Aminoglycosides Modifying

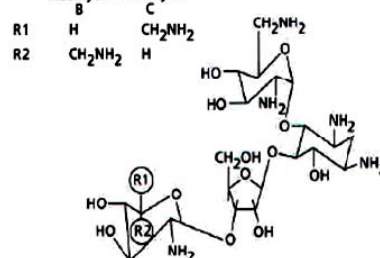
AMINOGLYCOSIDES

Streptomycin



Neomycin

Neomycin Neomycin



شکل ۱: تفاوت ساختاری آمینوگلیکوزیدها

می‌باشند. PAE مهار طولانی رشد باکتری است که به مدت ۸-۴ ساعت پس از مواجه شدن ارگانسیم‌هایی چون استافیلوکوکوس اورئوس، کلسیلا 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 کارایی دارو زمانی که سطوح سرمی آن پائین تر از سطح حداقل غلظت مهارکننده یا MIC باشد می‌شود. اهمیت چنین پدیده‌ای همچنان بحث‌برانگیز باقی مانده است زیرا تغییرات قابل توجهی در مدت زمان این اثر از ارگانسیم‌ها به ارگانسیم دیگر و حتی درون یک جنس و گونه مشابه دیده می‌شود.^{۱۳،۱۴} 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.^{۱۵،۱۶} قیمت و هزینه کم، وسیع الطیف بودن و فعالیت باکتری‌سیدالی سریع از جمله مزیت‌های این گروه از آنتی‌بیوتیک‌ها می‌باشد.^{۱۷،۱۸}

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 ضد میکروبی 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 به‌طور کلی در اکثریت بیماران با قطع مصرف دارو قابل برگشت است. سمیت شنوایی معمولاً

شماره‌گذاری مراکز کربن برای نام‌گذاری آنزیم‌های تغییردهنده به این شکل است که حلقه آمینوسیکلیتول پسوندی نمی‌گیرد و حلقه‌های اضافی دیگر با علامت (') و (") و الی آخر مشخص می‌شوند. حضور فراوان گروه‌های آمینو موجب می‌شود که بار کلی این ترکیبات در pH فیزیولوژیک مثبت شود که این امر خود باعث حالیت شدید آن‌ها در آب شده و هنگامی که از طریق خوراکی مصرف شوند به‌طور ضعیف در دسترس سلول‌ها قرار می‌گیرند.^{۳۹،۴۰،۴۱،۴۲} کانامایسین توسط استرپتومایسز کانامایستیکوس تولید می‌شود و از سه بخش تشکیل شده است (A و B و C). باقیمانده از B و C. جنتامیسین C نیز از سه بخش متفاوت ولی مرتبط آمینوگلیکوزید سولفات شامل C1، C2، C3، C4 و C5 تشکیل شده 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.^{۴۱،۴۲،۴۳}

خصوصیات فارماکودینامیک و فارماکوکینتیک

آمینوگلیکوزیدها

این آنتی‌بیوتیک‌ها به میزان کمی از دستگاه گوارش جذب شده 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 پریتونئال تجمع می‌یابند. همچنین در غلظت‌های بسیار بالا در ادرار (به‌طور مشخص ۱۰۰-۲۵ برابر بیشتر از سطح سرمی) ظاهر می‌شوند. در برخی از ارگانسیم‌ها دارای اثر هم‌افزایی با آنتی‌بیوتیک‌هایی نظیر بتالاکتام‌ها می‌باشند، هرچند اثر آنتاگونیسمی هم مشاهده شده است.^{۴۳،۴۴،۴۵} آمینوگلیکوزیدها دارای اثری به نام اثر پس‌از آنتی‌بیوتیک یا PAE

مکانیسم عمل ضد باکتریایی

آمینوگلیکوزیدها ترکیبات بازی، شدیداً قطبی و با بار مثبت هستند لذا توانایی اتصال به واحدهای با بار منفی نظیر لیپولی ساکاریدها 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 تیوکوتیک 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 مورد نیاز است بیانگر این نکته است که چرا آمینوگلیکوزیدها در محیط بی‌هوازی فعالیت بسیار کمتری دارند.^{۲۰،۱۹} 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 می‌کنند. آمینوگلیکوزیدها به‌طور اختصاصی به محل تشخیص کدون-آنتی کدون در جایگاه A متصل می‌شوند.^{۲۲،۲۱} 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 آنتی کدون ناچور را پیدا می‌کنند. این آنتی بیوتیک‌ها باعث بروز خطا در فرآیند ترجمه شده و این کد خوانی اشتباه منجر به تولید پروتئین‌های ناقص و در نهایت مرگ سلول می‌شود.^{۲۴،۲۳} همچنین بعضی از آمینوگلیکوزیدها به زیر واحد ریبوزومی ۵۰S نیز متصل می‌شوند. این اتصال از تشکیل مجموعه شروع سنتز پروتئین (اتصال formyl-Met-RNA mRNA و همکاری زیر واحد ۵۰S) جلوگیری نمی‌کند اما در مرحله‌ی طولی سازی زنجیره در حال تشکیل به‌وسیله‌ی اختلال در پروسه‌ی

غیرقابل برگشت 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 آنتی بیوتیک‌ها بایستی سطوح آمینوگلیکوزیدها به‌طور مناسب کنترل شود، به‌خصوص زمانی که این عوامل بایستی برای بیش از سه روز مصرف شوند.^{۹-۱}

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 از جمله /شریشیا کلی دارند. همین‌طور آمینوگلیکوزیدها در درمان عفونت‌های مایکوباکتریوم توبریکلوزیس نیز مؤثر واقع می‌شوند. این خانواده آنتی بیوتیکی به‌طور کلی از فعالیت کمی بر ضد باکتری‌های گرم مثبت به‌ویژه استرپتوکوک‌ها، انتروکوک‌ها به دلیل دیواره سلولی که به‌عنوان یک سد در مقابل نفوذپذیری دارو عمل می‌کند برخوردارند. علی‌رغم این، استافیلوکوکوس اورئوس و استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس به آمینوگلیکوزیدها حساس‌اند هرچند درصد بالایی از سویه‌های مقاوم در بعضی از مؤسسات گزارش شده است. بنابراین کاربرد بالینی این آنتی بیوتیک‌ها در درمان عفونت‌های باکتری‌های گرم مثبت به‌طور کلی محدود به ترکیبات سینرژسمی آن‌ها با دیگر عوامل ضد میکروبی می‌باشد. اکثر باکتری‌های روده‌ای و سودوموناس آئروژینوزا نسبت به جنتامیسین، توبرامیسین، نیتل‌میسین و آمیکاسین حساس‌اند. جنتامیسین و توبرامیسین دارای الگوهای فعالیت ضد باکتریایی مشابه هستند. لازم به ذکر است که جنتامیسین دارای فعالیت نسبتاً بیشتری علیه اشیشیا کلی و گونه‌های سراسیا می‌باشد در حالی که توبرامیسین علیه سودوموناس آئروژینوزا فعال‌تر است. سویه‌های مقاوم به جنتامیسین و توبرامیسین ممکن است همچنان نسبت به آمیکاسین حساس باقی بمانند.^{۴-۱۰،۹}

باکتری‌های تخمیرکننده‌ی مطلق (نظیر استرپتوکوک‌ها) که PMF تولید نمی‌شود، آمینوگلیکوزیدها قدرت ورود به داخل سلول را نداشته و در نتیجه باکتری نسبت به آمینوگلیکوزیدها مقاوم می‌باشد. از این جهت عفونت‌های حاصل از باکتری‌های بی‌هوازی و یا استرپتوکوک‌ها را نمی‌توان به خوبی توسط آمینوگلیکوزیدها درمان نمود.^{۳۰،۲۹}

۲. مقاومت اکتسابی

امروزه بروز و ظهور مقاومت نسبت به آمینوگلیکوزیدها تأثیر عمیقی در کاربرد بالینی‌شان داشته است. به‌طور کلی 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 به عبارت دیگر کاهش در جذب و غلظت داخل سلولی آنتی‌بیوتیک، ۳. غیرفعال‌سازی آنزیماتیک دارو به وسیله‌ی 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.^{۲۲،۱۷،۱۹} مقاومت اکتسابی بر علیه آمینوگلیکوزیدها غالباً به دلیل وجود نوعی پلاسمید (فاکتور R) می‌باشد. پلاسمید مزبور آنزیمی را کد می‌کند که با اتصال 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 RNA ۱۶S منجر به ایجاد مقاومت نسبت به آمینوگلیکوزیدها می‌شود. آمینوگلیکوزیدها با اتصال به زیر واحد ۳۰S ریبوزومی در فرآیند صحت ترجمه تداخل ایجاد می‌کنند. آنتی‌بیوتیک‌های آمینوگلیکوزیدی رده‌ی ۲-داکسی استرپتامین آمینوسیکلیتول (همچون جنتامیسین، نتومایسین 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

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 پلی‌پپتیدی در حال رشد می‌شوند. پروتئین‌های ناقصی که به این ترتیب حاصل می‌شوند ممکن است به درون غشاء سلولی وارد شده و نفوذپذیری آن را تغییر داده و در نهایت منجر به تحریک بیشتر انتقال آمینوگلیکوزیدها از ورای غشاء شوند.^{۲۵-۲۷} علاوه بر این‌ها مشاهده شده است که آمینوگلیکوزیدها می‌توانند به وسیله‌ی از دست دادن یون‌هایی چون پتاسیم (K^+) از سلول باعث آسیب به غشاء سلولی شوند. همین‌طور این آنتی‌بیوتیک‌ها با جایگزینی یون‌های کلسیم و منیزیم در دیواره سلولی باکتری، سبب از هم پاشیدگی 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 با اتصال غیراختصاصی به ریبوزوم‌ها و یا اسیدهای نوکلئیک یوکاریوتی انجام می‌دهند.^{۲۶-۲۸}

مقاومت نسبت به آمینوگلیکوزیدها

به‌طور کلی مکانیسم‌های مقاومت نسبت به آمینوگلیکوزیدها به دو صورت مکانیسم مقاومت ذاتی و مکانیسم مقاومت اکتسابی مشاهده می‌شود.^{۳۰،۲۹}

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 به سرعت رشد باکتری دارد، انتقال آمینوگلیکوزیدها در عرض غشای سیتوپلاسمی، توسط حامل ویژه‌ای صورت می‌گیرد که به وسیله‌ی 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

آنزیم‌ها به سه خانواده اصلی و بزرگ طبقه‌بندی می‌شوند که شامل: آمینوگلیکوزید ان-استیل ترانسفراز (AACs)، آمینوگلیکوزید-فسفو ترانسفرازها (APHs) و آمینوگلیکوزید-آنوکلئوتیدیل ترانسفرازها (ANTs) یا آمینوگلیکوزید-آدنیل ترانسفرازها (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.^{۲۴،۲۰،۷،۶}

آنزیم‌های تغییردهنده آمینوگلیکوزید

تاکتون بیش از ۷۰ ژن کد کننده این آنزیم‌ها شناخته شده و کلون شده‌اند و تعدادی نیز همچنان ناشناخته باقی مانده‌اند. ولی از این تعداد تنها یک مجموعه از ژن‌ها از لحاظ بالینی دارای اهمیت می‌باشند. به دلیل اینکه این مجموعه، آمینوگلیکوزیدهایی را غیرفعال می‌سازند که کاربرد بالینی و درمانی دارند. استیل ترانسفرازها با استفاده از استیل کوآنزیم A به‌عنوان دهنده، گروه استیل را به گروه‌های آمینوگلیکوزیدها منتقل می‌کنند در مقابل نوکلئوتیدیل ترانسفرازها و فسفو ترانسفرازها 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.^{۲۴،۹،۸}

الف) آمینوگلیکوزید استیل ترانسفرازها

آمینوگلیکوزید ان استیل ترانسفرازها 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 تقسیم شده‌اند که شامل AAC(6)، AAC(2)، AAC(1) و AAC(3) می‌باشند. این آنزیم‌ها هم در باکتری‌های گرم مثبت و هم گرم منفی وجود دارند. استیل ترانسفرازها با استفاده از استیل کوآنزیم A به‌عنوان دهنده، گروه استیل را به گروه‌های آمینوگلیکوزیدها منتقل می‌کنند، واکنش کاتالیز شده توسط استیل ترانسفرازها در شکل نشان داده شده است.^{۲۸،۲۷،۸}

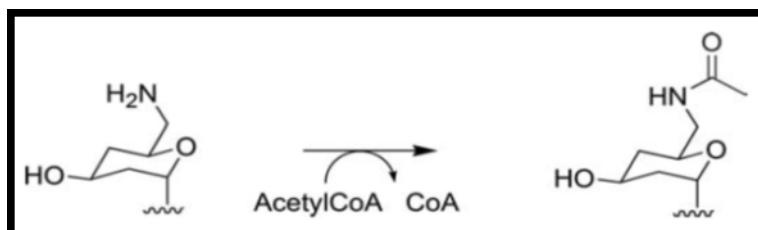
کلی در اثر تغییر پروتئین S12 نسبت به استرپتومایسین مقاوم می‌گردند.^{۸،۲،۴} مکانیسم دیگری که منجر به مقاومت نسبت به آمینوگلیکوزیدها با تغییر اهداف دارویی می‌شود، متیلاسیون ریبوزومی توسط آنزیم‌های متیل ترانسفراز است که باعث مقاومت سطح بالا (HLR) در تولیدکننده‌های آمینوگلیکوزیدها می‌شود. ژنی تحت عنوان *amtA*، یک آنزیم متیلاز را کد می‌کند که سبب متیلاسیون در ۱۶S rRNA می‌شود. این ژن در سرانشیا مارسسنس، کلبسیلا پنومونیه و اشیریشیا کلی گزارش شده 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 پلی ساکاریدی 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 داده شده 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 *yhE* از خانواده (MATE Multidrug and toxic compound extrusion) در اشیریشیا کلی گزارش شده است.^{۲۰،۳،۲}

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



شکل ۲: واکنش کاتالیز شده توسط استیل ترانسفرازها

ترمینال آنزیم دوکاره (Bifunctional enzyme) AAC(6)-APH(2") را کد می‌کند، این آنزیم فراوان‌ترین منبع مقاومت به آمینوگلیکوزیدها در ارگانسیم‌های گرم مثبت است.^{۲۴ و ۲۵} آنزیم AAC(6)-APH(2") علاوه بر آنتی‌بیوتیک‌های مذکور، مقاومت نسبت به جنتامیسین را نیز کد می‌کنند. آنزیم دوکاره AAC(6)-APH(2") دارای فعالیت آمینوگلیکوزید کیناز و استیل ترانسفراز می‌باشد و در باکتری‌های گرم مثبتی همچون استافیلوکوکوس اورئوس مکانیسم اولیه مقاومت به جنتامیسین (در بیش از ۹۰٪ ایزوله‌ها) می‌باشد.^{۱۳-۲۵ و ۲۱}

ب) آمینوگلیکوزید فسفو ترانسفرازها

آمینوگلیکوزید فسفو ترانسفرازها، 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 I-APH(2"), I-APH(3), II-APH(3), III-APH(3), IV-APH(3), V-APH(3), VI-APH(3), VII-APH(3), I-APH(3"), I-APH(4), I-APH(6), I-APH(7) می‌باشد. این آنزیم‌ها به‌طور شایع در باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت حضور دارند. آنزیم I-APH(3) مقاومت به طیف گسترده‌ای از آمینوگلیکوزیدها از جمله کانامیسین و نئومیسین را واسطه‌گری می‌کند. واکنش کاتالیز شده توسط فسفو ترانسفرازها را نیز در شکل ملاحظه می‌نمایید.^{۱۴}

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

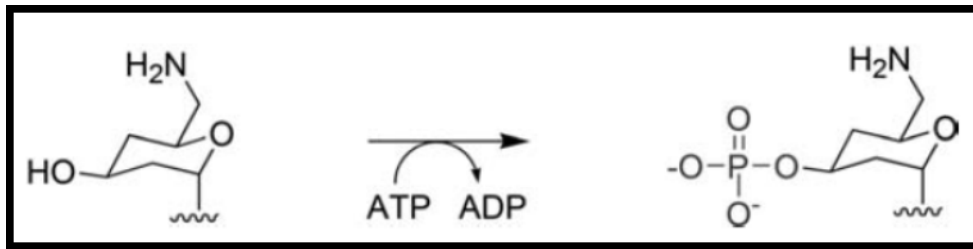
۱- آنزیم AAC(3)-I: سوبسترای آنزیم AAC(3)-I جنتامیسین می‌باشد و دو ژن *aac(3)-Ia* و *aac(3)-Ib* مقاومت نسبت به جنتامیسین را کد می‌کند.

۲- آنزیم AAC(3)-II: سوبسترای آنزیم AAC(3)-II جنتامیسین و توبرامیسین 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 از جمله انتروباکتریاسه، گونه‌های سودوموناس، گونه‌های سراشیا و گونه‌های اسیتوباکتر دارد.

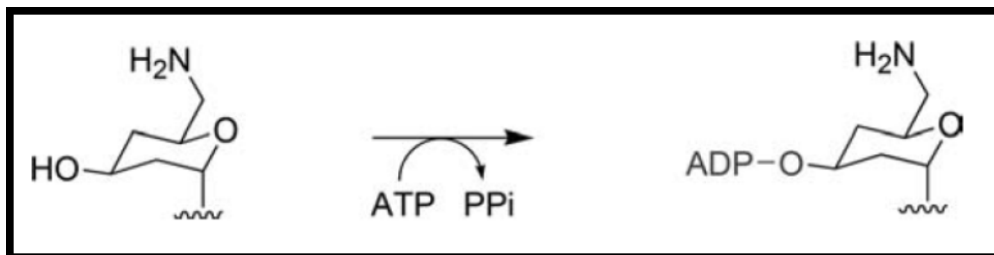
۳- آنزیم AAC(3)-III: سوبسترای این آنزیم، آنتی‌بیوتیک‌های جنتامیسین، توبرامیسین، کانامیسین، نئومیسین، دیکاسین و پرومیسین می‌باشد. ژن‌های *aac(3)-IIIa*، *aac(3)-IIIb* و *aac(3)-IIIc* عامل کد کننده مقاومت به این آنتی‌بیوتیک‌ها می‌باشند. این آنزیم در سودوموناس شیوع دارد.^{۱۸ و ۲۰}

آنزیم AAC(6) دارای سه کلاس می‌باشد:

آنزیم AAC(6)-I: این آنزیم مقاومت نسبت به توبرامیسین، آمیکاسین، نئیل میسین و دیکاسین را سبب می‌شود. نه ژن *a*، *b*، *c*، *d*، *e*، *f*، *g*، *h*، *i* 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 مشاهده شده است. ژن *aac(6)-Ie* بخش ان-



شکل ۳: واکنش کاتالیز شده توسط فسفو ترانسفرازها



شکل ۴: واکنش کاتالیز شده توسط نوکلئوتیدیل ترانسفرازها

می باشد که سوبستراهای آن شامل آمیکاسین، تورامایسین و ایزپامیسین می باشد. شکل واکنش کاتالیز شده توسط نوکلئوتیدیل ترانسفرازها را به تصویر می کشد. در جدول ۱ آنزیم های تغییر دهنده آمینو گلیکوزیدها و سوبستراهای آنها آورده شده است.

ژنتیک آنزیم های تغییر دهنده آمینو گلیکوزیدها

ژن های کد کننده آنزیم های تغییر دهنده آمینو گلیکوزید، کروموزومی یا بر روی عناصر خارج کروموزومی از قبیل پلاسمیدها و ترانسپوزون ها حمل می شوند. به عنوان مثال ژن مربوط به آنزیم APH(3')-II روی کروموزوم قرار دارد. امروزه ژن های این آنزیم ها را مربوط به عناصر ژنتیکی متحرک می دانند. به عنوان مثال ژن های مربوط به آنزیم های AAC(3) در ارتباط با ترانسپوزون ها و اینتگرون ها می باشد.^{۱۸، ۲۰}

ج) آمینو گلیکوزید نوکلئوتیدیل ترانسفرازها

نوکلئوتیدیل ترانسفرازها با استفاده از مولکول ATP به عنوان دهنده، گروه آدنیل را به گروه های هیدروکسیل آمینو گلیکوزیدها انتقال می دهند و منجر به غیرفعال شدن آنها می شوند. در این خانواده پنج عضو وجود دارند که شامل ANT(2''), ANT(4'), ANT(3'), ANT(6') و ANT(9') می باشند. یکی از شایع ترین این آنزیم ها، آنزیم ANT(2'')-I می باشد که سبب مقاومت به جتامیسین، کانامایسین، سیزومایسین و تورامایسین می شود. این آنزیم به طور گسترده در اغلب باکتری های گرم منفی حضور دارد. سه ژن ANT(2'')-Ia، ANT(2'')-Ib و ANT(2'')-Ic دارای فعالیت -O نوکلئوتیدیل ترانسفرازهای گزارش شده است. ژن ANT(2'')-Ia بر روی پلاسمیدهای غیرکانژوگاتیو، کانژوگاتیو، ترانسپوزون ها و اینتگرون ها یافت شده است. پلاسمید pUB110 که ژن ANT(4')-Ia را حمل می کند، همچنین پلاسمیدهای الحاقی حمل کننده ترانسپوزون Tn4001 کد کننده ژن ANT(6')-Ie/APH(2'') در SCCmec IVc گزارش شده اند.^{۱۳ و ۱۴} آنزیم دیگر، آنزیم ANT(4')-II

جدول ۱: آنزیم‌های تغییردهنده آمینوگلیکوزیدها و سوبستراهای آنها

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

گونه‌های پروتئوس، گونه‌های سالمونلا و شیگلا شش نوع از آنزیم‌های AME وجود دارد که شامل آمینوگلیکوزید-۲-O- آنزیم‌های نوکلئوتیدیل ترانسفراز I [ANT(2'')-I]، آمینوگلیکوزید-۴-O- نوکلئوتیدیل ترانسفراز II [ANT(4')-II]، آمینوگلیکوزید-۴-O- نوکلئوتیدیل ترانسفراز I [ANT(4')-I]، آمینوگلیکوزید-۳-O- فسفوریل ترانسفراز I [APH(3')-I]، آمینوگلیکوزید-۳-N- استیل ترانسفراز II [AAC(3)-II]، آمینوگلیکوزید-۶-N-

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 آدنیلایسیون گروه عملکردی دارو می‌باشد. در میان باسیل‌های گرم منفی رودهای چون گونه‌های اشریشیا کلی، گونه‌های کلبسیلا،

استیل ترانسفراز I [AAC(6')-I] می‌باشند.^{۱۱} از این میان سه آنزیم AAC(3)-II، APH(3)-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 از جمله 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.^{۱۱-۱۳}

مقاومت هم‌زمان به جنتامیسین و توبرامیسین 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 توبرامیسین در اشریشیا کلی توسط آنزیم ANT(2'')-I که به وسیله‌ی 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. آنزیم APH(3)-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 قرار گرفته باشند.^{۲-۴} مهم‌ترین مکانیسم مقاومت نسبت به آمینوگلیکوزیدها ژن‌های آنزیم‌های تغییردهنده آن‌ها می‌باشد.

مقاومت هم‌زمان به جنتامیسین و توبرامیسین 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 توبرامیسین در اشریشیا کلی توسط آنزیم ANT(2'')-I که به وسیله‌ی 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. آنزیم APH(3)-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 قرار گرفته باشند.^{۲-۴} مهم‌ترین مکانیسم مقاومت نسبت به آمینوگلیکوزیدها ژن‌های آنزیم‌های تغییردهنده آن‌ها می‌باشد.

وان هوف 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'')-IIa*، *aph(3')-Via* را در ۱۱۰۲ ایزوله بالینی جدا شده از خون، شامل ۸۹۷ ایزوله (۸۱/۴ درصد) انتروباکتریاسه (۴۴/۹ درصد اشریشیا کلی، ۱۲/۵ درصد سودوموناس، ۱/۵ درصد گونه‌های کلبسیلا و ۸/۸ درصد 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 توبرامیسین، ۷/۵ درصد به نیتل میسین و ۲/۸ درصد آمیکاسین مقاوم بودند. ژن‌های *aac(3)-Ia*

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 قرار دادند. آن‌ها همچنین فنوتیپ مقاومتی به ۱۲ آنتی‌بیوتیک را به روش آگار دایلوژن بررسی کردند. نتایج ارزیابی این مطالعات، ۱۸/۱۸ درصد مقاومت نسبت به آمیکاسین، ۵۶/۸۲ درصد جنتامیسین، ۶۳/۳۶ درصد توبرامیسین را نشان دادند. نتایج بررسی ژنوتیپی نشان داد که شایع‌ترین ژن مقاومت، آمینوگلیکوزید استیل ترانسفراز *aac(3)-II* (۵۲/۲۷ درصد) و پس از آن ژن *aac(6')-I* با فراوانی کمتر (۵۵/۲۹ درصد) می‌باشد. ژن *aac(3)-I* در نمونه‌های مورد بررسی شناسایی نشد.^{۲۸} در سال ۲۰۰۷ جاکوبسن و همکاران، ۱۲۰ ایزوله اشریشیا کلی که یکی از ژن‌های مقاومت به جنتامیسین *aac(3)-II*، *aac(3)-IV* و *ant(2'')-I* 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 *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

سازگار (IncN و IncF, IncI1) کد می‌شدند. در این مطالعه، پلاسمید IncFII با وزن مولکولی ۱۴۰ کیلو جفت باز از یک ایزوله بالینی انسانی و سه ایزوله حیوانی جدا شده است. لیونگ هو و همکاران بعلاوه نشان دادند که ایزوله‌های انسانی و حیوانی مخزن مشابهی از ژن‌های مقاومت را حمل می‌کنند.^{۳۱}

نتیجه گیری

از مطالعات انجام شده استدلال می‌شود که باگذشت زمان میزان شیوع ژن‌های مقاومت به آمینوگلیکوزید 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. شیوع این آنزیم‌ها دارای تنوع جغرافیایی می‌باشند، در نتیجه 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؛ به عبارت دیگر چنانچه ایزوله‌ای از نظر 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 به صورت دوره‌ای و به طور مداوم میزان و مکانیسم ایجاد مقاومت در باکتری‌های مولد عفونت جدا شده از نمونه‌های بالینی بیماران بررسی شود تا بدین وسیله 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 به پاس همه زحمات بی‌دریغ ایشان کمال سپاسگزاری را می‌نماید.

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 اشیریشیا کلی مقاوم به جنتامیسین و تعیین مقاومت به جنتامیسین در فاضلاب بیمارستان دانشگاه دانش بود. برای این منظور نمونه‌های آب، ماهانه از این بیمارستان جمع‌آوری شد. ایزوله‌های اشیریشیا کلی جدا شده از آب با ایزوله‌های جدا شده از عفونت ادراری بیماران همان بیمارستان با روش PFGE مورد ارزیابی قرار گرفت. همه ایزوله‌ها از نظر مقاومت به جنتامیسین و ارتباط آن با ژن‌های *aac(3)-II*, *aac(3)-IV*, *ant(2'')-I*, *armA* و الگوی فنوتیپی مقاومت مورد بررسی قرار گرفتند. این ایزوله‌ها بعلاوه از نظر حضور ژن‌های *virولانس*, *hlyA*, *chuA*, *sfaS*, *fogG*, *malX*, *traT*, *iutA*, *fyuA*, *iroN* و *cnfI* نیز بررسی شدند. ژن *aac(3)-II* در ایزوله‌های جدا شده در هر دو گروه بیماران و فاضلاب مشاهده شد. الگوی PFGE ارتباط معناداری را بین دو گروه ایزوله اشیریشیا کلی نشان می‌داد. اغلب اشیریشیا کلی‌های مقاوم به جنتامیسین جدا شده از بیماران و نمونه‌های فاضلاب فنوتیپ مقاومت چندگانه به همراه ژن‌های *virولانس* 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 اشیریشیا کلی جدا شده از نمونه‌های انسانی و حیوانات اهلی صورت گرفته بود گزارش نمودند که ۱۶۰ ایزوله (۱۰۷ ایزوله انسانی و ۵۳ ایزوله حیوانی) نسبت به جنتامیسین مقاوم و ۸۲ ایزوله (۶۰ ایزوله انسانی و ۲۹ ایزوله حیوانی) حساس به جنتامیسین بودند. در بررسی ژنوتیپی ژن *aac(3)-IIa* (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

References

- Vakulenko SB, Mobashery S. Versatility of aminoglycosides and prospects for their future. *Clin Microbiol Rev* 2003; 16: 430-450.
- 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.
- Arya D. Aminoglycoside antibiotics, from chemical biology to drug discovery. John Wiley & Sons Inc. USA, 2007, P. 119-140.
- Garneau-Tsodikova S, Labby KJ. Mechanisms of Resistance to Aminoglycoside Antibiotics: Overview and Perspectives. *Medchemcomm*. 2016 Jan 1;7(1):11-27.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Sutcliffe JA. Improving on nature: antibiotics that target the ribosome. *Curr Opin Microbiol* 2005; 8: 534-542.
- 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.
- Mingeot-Leclercq M, Tulkens P. Aminoglycosides: nephrotoxicity. *antimicrob agent chemother* 1999; 43: 1003-1012.
- 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.
- 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.
- Brown NM, Reeves DS. Mechanisms and epidemiology of aminoglycoside resistance. *J Med Microbiol* 1992; 36: 11-14.
- Paul M, Benuri-Silbiger I, Soares-Weiser K, Leibovici L. Beta-lactam monotherapy versus beta lactam-aminoglycoside combination therapy for sepsis in immunocompetent patients: systematic review and meta-analysis of randomized trials. *BMJ* 2004; 328(7441): 668.
- Richard EL. Bacterial evolution and the cost of antibiotic resistance. *Internatl Microbiol* 1998; 1: 265-274.
- Damper PD, Epstein W. Role of the membrane potential in bacterial resistance to aminoglycoside antibiotics. *Antimicrob Agents Chemother* 1981; 20(6): 803-8.
- 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.
- Nikaido H, Zgurskaya HI. AcrAB and related multidrug efflux pumps of *Escherichia coli*. *J Mol Microbiol Biotechnol* 2001; 3(2): 215-8.
- 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.
- 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.
- Rather PN. Origins of the aminoglycoside modifying enzymes. *Drug Resist Updates* 1998; 1: 285-291.
- 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.
- 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.

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, Sanschagrín F, Levesque R, Brousseau R, Masson L, Larivière 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*. *Zhejiang J* 2006; 35: 83-6.
29. 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: 816-842.
30. Jakobsen L, Dorthe S, Lars HH, Line B, Henrik W, Claus J, Dennis SH, Bodil MP, Dominique LM, Niels F, Søren 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.