BRIEF REPORT

Frequency of Aminoglycoside-Resistance Genes in Methicillin Resistant Staphylococcus Aureus Isolated from Clinical Specimens

Farhad Seyedi Marghaki[1],
Hossein Hosseini Nave[2],
Davood Kalantar-Neyestanaki[2],
Fereshteh Safaari[2],
Yasser Fasihi[1],
Mohammad Moradi[2]

[1] MSc in Medical Microbiology, Department of Microbiology, School of Medicine, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran
[2] Assistant Professor, Department of Microbiology, School of Medicine, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

(Received February 25, 2016, Accepted April 30, 2017)

Abstract

Background and purpose: Aminoglycosides are broad-spectrum antibiotics that are often used in combination with other antibiotics for the treatment of severe *S. aureus* infections. This research aimed at investigating the phenotypic and genotypic evaluation of aminoglycoside resistance in clinical isolates of MRSA in Kerman, Iran.

Materials and methods: During a one year period, a total of 57 MRSA isolates was collected from 130 isolates of *S. aureus*. MRSA isolates were tested for susceptibility to 13 antimicrobial agents using disc diffusion method. Then, the presence of aminoglycoside modifying enzymes (AMEs) was evaluated by multiplex polymerase chain reaction.

Results: In the MRSA isolates, high resistance rates were observed for tetracycline, erythromycin, kanamycin and gentamicin. In fact, 73.7% and 68.4% of the isolates were found to be resistant to kanamycin and gentamicin, respectively. aac(6′)-Ie-aph(2″), aph(3′)-III, ant(4′)-Ia, and aph(2″)-Id genes were detected in 40.3%, 15.7%, 12.2%, and 3.5% of the aminoglycosides–resistant isolates, respectively.

Conclusion: The prevalence of aminoglycosides resistance among MRSA isolates is rising, therefore, identification of resistance genes in order to achieve the exact pattern of resistance is helpful in preventing the spread of resistant strains.

Keywords: methicillin- resistant *staphylococcus aureus*, aminoglycoside resistance, aminoglycoside modifying enzyme

J Mazandaran Univ Med Sci 2017; 27(153): 112 -117 (Persian).

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-24]

گزارش کوتاه

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و هفتم شماره 153 مهر سال 1396 (117 -112)

بررسی فراوانی ژن های کد کننده مقاومت به آمینوگلیکوزیدها در ایزوله های استافیلوکوک اورئوس مقاوم به متی سیلین جدا شده از نمونه های بالینی

فرهاد سیدی مرغکی[1]
حسین حسینی نوه[2]
داود کلانتر نیستانکی[2]
فرشته صفاری[2]
یاسر فصیحی[1]
محمد مرادی[2]

چکیده

سابقه و هدف: آمینوگلیکوزیدها آنتی‌بیوتیک‌هایی با طیف اثر گسترده هستند که عمدتاً در درمان عفونت‌های شدید استافیلوکوک اورئوس به‌صورت ترکیبی با دیگر آنتی‌بیوتیک‌ها استفاده می‌شوند. مطالعه حاضر به بررسی فنوتیپی و ژنوتیپی مقاومت به آمینوگلیکوزیدها در ایزوله‌های بالینی استافیلوکوک اورئوس مقاوم به متی سیلین (MRSA) جمع‌آوری‌شده از شهر کرمان می‌پردازد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه توصیفی – مقطعی طی مدت یک سال از 130 ایزوله استافیلوکوک اورئوس جدا شده از نمونه‌های کلینیکی، 57 ایزوله (MRSA) جمع‌آوری شد. حساسیت این ایزوله‌ها نسبت به 13 آنتی‌بیوتیک به روش دیسک دیفیوژن تعیین گردید و درنهایت حضور ژن‌های کد کننده آنزیم‌های تغییردهنده آمینوگلیکوزیدها با روش Multiplex PCR ارزیابی شد.

یافته‌ها: دراین مطالعه مقاومت بالایی نسبت به تتراسیکلین، اریترومایسین، کانامایسین و جنتامایسین در ایزوله‌های MRSA مشاهده گردید به طوری که به ترتیب 73/7 و 68/4 درصد از ایزوله ها به کانامایسین و جنتامایسین مقاوم بودند. ژن‌های aac(6′)-Ie-aph(2″)، aph(3′)-III، ant(4′)-Ia و aph(2″)-Id به ترتیب در 40/3 درصد، 15/7 درصد، 12/2 درصد و 3/5 درصد از ایزوله های مقاوم به آمینوگلیکوزیدها شناسایی شدند.

استنتاج: شیوع مقاومت به آمینوگلیکوزیدها در میان ایزوله‌های MRSA در حال افزایش است. بنابراین شناسایی ژن‌های مقاومت به منظور دستیابی به الگوی دقیق مقاومت در جلوگیری از انتشار سویه‌های مقاوم کمک شایانی می‌نماید.

واژه های کلیدی: استافیلوکوکوس ارئوس مقاوم به متی سیلین، مقاومت به آمینوگلیکوزیدها، آنزیم‌های تغییردهنده آمینوگلیکوزیدها

مقدمه

استافیلوکوک اورئوس مقاوم به متی سیلین (MRSA)یکی از مهم‌ترین عوامل ایجادکننده عفونت‌های بیمارستانی است که طیف گسترده‌ای از بیماری‌ها از عفونت‌های خفیف پوستی تا عفونت‌های پیچیده و شدید مثل اندوکاردیت، پنومونی واستئومیلیت را ایجاد می‌کند(1). امروزه ایزوله‌های MRSA گسترش

مولف مسئول: محمد مرادی - گروه میکرب‌شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران Email: m_moradie@yahoo.co.uk
1. کارشناس ارشد میکرب‌شناسی پزشکی، گروه میکرب‌شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران
2. استادیار، گروه میکرب‌شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران
تاریخ دریافت : 1395/11/25 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : 1395/11/25 تاریخ تصویب : 1396/3/8

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-24]

جهانی پیداکرده و نه تنها در بیمارستان‌ها بلکه در جامعه نیز افزایش پیداکرده‌اند. از طرفی این ایزوله‌ها مقاومت‌های چندگانه‌ای نسبت به طیف وسیعی از آنتی بیوتیک‌ها از جمله بتالاکتام‌ها، آمینوگلیکوزیدها، تتراسیکلین‌ها، فلوروکینولون‌ها وماکرولیدها را کسب نموده‌اند(2).

آمینوگلیکوزیدها ازاولین آنتی‌بیوتیک‌های کشف شده‌ای هستند که در درمان عفونت‌های شدید ایجاد شده توسط پاتوژن‌های گرم مثبت وگرم منفی مورد استفاده قرار گرفته‌اند(3). این آنتی‌بیوتیک‌ها در ترکیب با دیگر آنتی‌بیوتیک‌ها ازجمله بتا لاکتام‌ها یا گلیکوپپتیدهایی مثل ونکومایسین اثر هم‌افزایی دارند لذا در درمان عفونت‌های شدید استافیلوکوکی به‌خصوص در درمان اندوکاردیت عموماً به‌صورت ترکیبی استفاده می‌شوند(4).

مکانیسم‌های مقاومت به این آنتی‌بیوتیک‌ها شامل تغییر در جایگاه ریبوزومی اتصال دارو، کاهش در نفوذپذیری دارو، غیرفعال سازی دارو توسط آنزیم‌ها می‌باشد. در این میان شایع‌ترین مکانیسم مقاومت در سویه‌های استافیلوکوک اورئوس غیرفعال سازی دارو توسط آنزیم‌های تغییردهنده آمینوگلیکوزیدها (AMEs)می‌باشد(1). در سویه‌های استافیلوکوک اورئوس سه ژن کدکننده این آنزیم‌ها-aac(6′)-Ie aph(2″)، aph(3′)-IIIa و ant(4′)-Ia از اهمیت ویژه‌ای در قیاس با دیگر ژن‌های کد کننده AMEs برخوردارند(5).

با توجه به گسترش سویه‌های MRSA در هر دو محیط بیمارستان و جامعه و اهمیت آمینوگلیکوزیدها در درمان عفونت‌های ناشی از این ایزوله‌ها، هدف اصلی این پژوهش بررسی فنوتیپی مقاومت به آمینوگلیکوزیدها و تعیین فراوانی ژن‌های aac(6′)-Ie-aph(2″)، aph(3′)-IIIa، ant(4′)-Ia، aph(2″)-Ib، aph(2″)-Ic و aph(2″)-Id دخیل در ایجاد مقاومت به آمینوگلیکوزیدها در میان ایزوله‌های MRSA می‌باشند.

مواد و روش ها

در این مطالعه توصیفی -مقطعی ، مجموع 130 ایزوله استافیلوکوک اورئوس طی تاریخ فروردین 1394 تا فروردین 1395 از بیماران بستری شده و غیر بستری شهر کرمان جمع‌آوری شدند. ایزوله‌ها بر اساس آزمون‌های افتراقی شامل رنگ‌آمیزی گرم، آزمون کاتالاز، تولید کواگولاز، DNase و تخمیر مانیتول تعیین هویت شدند و به‌عنوان ایزوله‌های استافیلوکوک اورئوس برای انجام آزمون‌های بعدی مورداستفاده قرار گرفتند(6). سپس ژنوم ایزوله‌ها با استفاده از روش استاندارد جوشاندن استخراج شد(7). تائید نهایی ایزوله‌های استافیلوکوک اورئوس با استفاده از روش PCR برای ژن nuc و تعیین ایزوله‌های MRSA با انجام تست فنوتیپی با دیسک سفوکسیتین بر اساس دستورالعمل موسسه استاندارد بالینی و آزمایشگاه (CLSI) انجام شد(8، 9). حساسیت ضد میکروبی ایزوله‌های MRSA با استفاده از روش انتشار از دیسک (Disc diffusion) برای دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی آمیکاسین، جنتامایسین، توبرامایسین، کانامایسین، نتیل مایسین، تری متوپریم -سولفامتوکسازول، لینزولید، کلیندامایسین، اریترومایسین، تتراسیکلین، سیپروفلوکساسین و ونکومایسین بر اساس توصیه‌نامه (CLSI) مشخص شد(9). ایزوله‌هایی که با انجام آنتی بیوگرام نسبت به آمینوگلیکوزیدها مقاوم بودند برای شناسایی ژن‌های aac(6′)-Ie-aph(2″)، aph(3′)-III، aph(2″)-Id، aph(2″)-Ic، aph(2″)-Ib و ant(4′)-Ia که از شایع‌ترین ژن‌های مقاومت به آمینوگلیکوزیدها می‌باشند انتخاب شدند. شناسایی این ژن‌ها با روش PCR Multiplex انجام گرفت(10، 7).

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-24]

یافته ها و بحث

از مجموع 130 ایزوله استافیلوکوک اورئوس جمع‌آوری شده از نمونه‌های مختلف بالینی تعداد 57 ایزوله MRSA شناسایی شدند. شیوع ایزوله‌های MRSAدر هر دو محیط بیمارستان و جامعه در حال افزایش است. در این مطالعه شیوع این ایزوله‌ها در شهر کرمان 41 درصد بود، این در حالی است که در مطالعات پیشین شیوع ایزوله‌های MRSA در نقاط مختلف ایران را از 19 تا 90 درصد گزارش کرده‌اند(1). رحیمی در سال 2015 و ایمان عینی و همکاران در سال 2013 شیوع ایزوله‌های MRSA را در تهران به ترتیب 29/9 و 63/6 درصد گزارش کردند(7 ،1). از عوامل اصلی تفاوت در فراوانی این ایزوله‌ها می‌توان به تعداد بیماران مورد مطالعه و مکان جغرافیایی بیمارستان‌های مورد بررسی اشاره کرد(11).

در مطالعه حاضر بیش‌ترین مقاومت نسبت به تتراسیکلین (90 درصد) و اریترومایسین (88 درصد) وجود داشت. هم‌چنین 70/2 درصداز ایزوله‌ها به سیپروفلوکساسین، 62/2 درصد به کلیندامایسین و 49/1 درصد به تری متوپریم-سولفامتوکسازول مقاوم بودند. در مطالعه ما مقاومت بالا نسبت به تتراسیکلین، اریترومایسین و سیپروفلوکساسین مشابه با سایر مطالعات بود(12 ،1). یکی از علل این مقاومت بالا می‌تواند ناشی از استفاده زیاد از این آنتی‌بیوتیک‌ها در ایران باشد(11). در مقابل تمامی ایزوله‌ها به ونکومایسین حساس بوده وتنها 2 درصد به لینزولید مقاوم بودند. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد حتی با استفاده زیاد از ونکومایسین هنوز مقاومتی نسبت به آن ایجاد نشده است و این آنتی‌بیوتیک هم‌چنان می‌تواند به‌خوبی علیه عفونت‌های استافیلوکوک اورئوس مورد استفاده قرار گیرد. این نتیجه مشابه با نتایج به‌دست‌آمده در مطالعات قبلی می‌باشد(11 ،1). در این مطالعه 49 ایزوله MRSA حداقل به یکی از آنتی‌بیوتیک‌های آمینوگلیکوزید مقاوم بودند. میزان مقاومت بالایی به کانامایسین (73/3 درصد)، جنتامایسین (68/4 درصد)، توبرامایسین (59/6 درصد) و آمیکاسین (54/4 درصد) مشاهده گردید. تنها 19/3 درصد ایزوله‌ها به نتیل مایسین مقاوم بودند. این نتایج نقش مؤثر جنتامایسین در درمان ترکیبی عفونت‌های استافیلوکوک اورئوس را کمرنگ می‌کند. با این حال نتیل مایسین می‌تواند جایگزین مناسبی برای جنتامایسین در درمان عفونت‌های ایجادشده توسط ایزوله‌های MRSAباشد.

نتایج مربوط به فراوانی ژن‌های کدکننده AME در ایزوله‌های MRSA نشان داد از 49 ایزوله مقاوم به آمینوگلیکوزیدها 29 ایزوله حداقل دارای یکی از ژن‌های کدکننده AME بودند. شایع‌ترین ژن کد کننده مقاومت به آمینوگلیکوزیدها در بین این 29 ایزوله ژن *aac(6')-Ie-aph(2'')*بود که 23 ایزوله (79/3 درصد) دارای این ژن بودند و به دنبال آن ژن‌های *aph(3')-III* و*ant(4')-Ia* با 9 (31 درصد) و 7 (24/1 درصد) قرار داشتند. ژن *aph(2'')-Id* نیز در 2 (6/9 درصد) ایزوله مشاهده شد. هیچ‌کدام از ایزوله‌ها دارای ژن‌های *aph(2'')-Ib*و *aph(2'')-Ic* نبودند.7 ایزوله ژن *aac(6')-Ie-aph(2'')-I* و *aph(3')-IIIa*، 3 ایزوله *aac(6')-Ie-aph(2'')-I* و *ant(4')-Ia* و 2 ایزوله ژن *aac(6')-Ie-aph(2'')-I* و *aph(2'')-Id* را به طور همزمان دارا بودند.

در تعداد دیگری از مطالعات نیز ژن aac(6′)-Ie-aph(2″)-Iبیش‌ترین فراوانی را در میان ایزوله‌های MRSAدارا بود(14 ،13). همانند دیگر مطالعات این ژن عمدتاً در میان ایزوله‌های مقاوم به جنتامایسین و آمیکاسین مشاهده گردید و احتمالاً موجب مقاومت به این آنتی‌بیوتیک‌ها می‌شود(7 ،1). این موضوع وقتی قوت بیش‌تری می‌گیرد که مشابه با دیگر مطالعات در ایزوله‌های حساس به جنتامایسین و آمیکاسین ولی مقاوم به دیگر آمینوگلیکوزیدها، ژن‌های دیگر AME موجب

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-24]

مقاومت می‌شوند(14). با این‌وجود ایزوله‌های حساس به جنتامایسین و آمیکاسین هم وجود داشتند که ژن aac(6′)-Ie-aph(2″)-Iرا داشتند که بامطالعه پیشین در تهران مشابه است اما با دیگر مطالعات در تضاد می‌باشد(13،1). مطالعات قبلی نشان داده اند که در ایزوله‌های استافیلوکوک اورئوس ژن ant(4′)-Ia موجب مقاومت به کانامایسین و توبرامایسین می شود(14،1). در مطالعه حاضر نیز تقریبا تمامی ایزوله‌هایی که دارای ژن ant(4′)-Ia بودند به کانامایسین و توبرمایسین مقاوم بودند.

تعداد 20 ایزوله ازلحاظ فنوتیپی حداقل به یکی از آنتی‌بیوتیک‌های آمینوگلیکوزید مقاومت داشتند اما در این ایزوله‌ها هیچ یک از ژن‌های کد کننده AME مشاهده نشد. عدم شناسایی این ژن‌ها را می‌توان این‌طور تفسیر کرد که واریانت‌های متفاوتی از این ژن ها حضور دارند که با پرایمرهای مورد استفاده در این مطالعه قادر به تشخیص نیستند و یا ممکن است ژن‌های مقاومت به آمینوگلیکوزید جدیدی وجود داشته باشد که در جمعیت‌های استافیلوکوک اورئوس در حال گردش هستند(14).

در پایان می‌توان گفت به‌دلیل مقاومت بالا به آمینوگلیکوزیدها و همچنین فراوانی بالای ژن های AMEs در میان ایزوله‌های MRSA، اتخاذ راهکارهایی برای جلوگیری از پخش این ایزوله‌ها در محیط بیمارستان و انتخاب مناسب آنتی‌بیوتیک توسط پزشک معالج ضروری به نظر می‌رسد.

سپاسگزاری

نویسندگان این مقاله مراتب قدردانی و تشکر خود را از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کرمان به دلیل حمایت مالی و اجرایی اعلام می‌دارند.

References

1. Rahimi F. Characterization of resistance to aminoglycosides in methicillin-resistant staphylococcus aureus strains isolated from a tertiary care hospital in Tehran, Iran. Jundishapur J Microbiol. 2016; 9(1): 2–7.
2. Novick RP, Schlievert P, Ruzin A. Pathogenicity and resistance islands of staphylococci. Microbes Infect. 2001; 3(7): 585–594.
3. Vakulenko SB, Mobashery S. Versatility of Aminoglycosides and Prospects for Their Future Versatility of Aminoglycosides and Prospects for Their Future. Clin Microbiol Rev. 2003; 16(3): 430–450.
4. Guodarzi A, Zolfaghari MR, Rezazadeh M, Amouzandeh-Nobaveh A, Arjmandzadegan M, Ghaznavi-Rad E. Phenotypic and genotypic determination of aminoglycoside resistance in methicillin resistant Staphylococcus aureus isolated from nosocomial infections. J Urmia Univ Med Sci. 2014; 24(11): 883– 893.
5. Oyebode ATA, David OO, Kunle PB, Aderayo AA, Adeolu O. Distribution of genes encoding aminoglycoside modifying enzymes amongst methicillin resistant and methicillin sensitive Staphylococcus aureus isolates from Nigerian hospitals. Afr J Microbiol Res. 2015; 9(5): 318–325.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-24]

6. Kateete DP, Kimani CN, Katabazi FA, Okeng A, Okee MS, Nanteza A, et al. Identification of Staphylococcus aureus: DNase and Mannitol salt agar improve the efficiency of the tube coagulase test. Ann Clin Microbiol Antimicrob. 2010; 9(1): 23.
7. Emaneini M, Bigverdi R, Kalantar D, Soroush S, Jabalameli F, Noorazar Khoshgnab B, et al. Distribution of genes encoding tetracycline resistance and aminoglycoside modifying enzymes in Staphylococcus aureus strains isolated from a burn center. Ann Burns Fire Disasters. 2013; 26(2): 76–80.
8. Brakstad OG, Aasbakk K, Maeland JA. Detection of Staphylococcus aureus by polymerase chain reaction amplification of the nuc gene. J Clin Microbiol. 1992; 30(7): 1654–1660.
9. Clinical and Laboratory Standard Institute. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility test: approved standard. M2-A9. 9th ed .Wayne, Pennsylvania. CLSI, NCCLS. 2006.
10. Vakulenko SB, Donabedian SM, Anatoliy M, Zervos MJ, Lerner S a, Chow JW, et al. Multiplex PCR for Detection of Aminoglycoside Resistance Genes in Enterococci Multiplex PCR for Detection of Aminoglycoside Resistance Genes in Enterococci. Antimicrob Agents Chemother. 2003; 47(4): 1423–1426.
11. Rahimi F, Katouli M, Pourshafie MR. Characteristics of hospital- and communityacquired meticillin-resistant Staphylococcus aureus in Tehran, Iran. J Med Microbiol. 2014; 63(6): 796–804.
12. Mohammadi S, Sekawi Z, Monjezi A, Maleki MH, Soroush S, Sadeghifard N, et al. Emergence of SCCmec type III with variable antimicrobial resistance profiles and spa types among methicillin-resistant Staphylococcus aureus isolated from healthcare- and community-acquired infections in the west of Iran. Int J Infect Dis. 2014; 25: 152–158.
13. Emaneini M, Taherikalani M, Eslampour MA, Sedaghat H, Aligholi M, Jabalameli F, et al. Phenotypic and genotypic evaluation of aminoglycoside resistance in clinical isolates of staphylococci in Tehran, Iran. Microb Drug Resist. 2009; 15(2): 129–132.
14. Hauschild T, Sacha P, Wieczorek P, Zalewska M, Kaczyńska K, Tryniszewska E. Aminoglycosides resistance in clinical isolates of Staphylococcus aureus from a University Hospital in Bialystok, Poland. Folia Histochem Cytobiol. 2008; 46(2): 225–228.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-24]