Мухар олгойн сорьцноос ялган дүйсэн *E.coli*-д аминогликозидод тэсвэржилтийн генийг илрүүлсэн дүн

Г.Есөнзаяа[1,2], Ж.Сарантуяа[1], Я.Мөнхдэлгэр[1]

[1]АШУҮИС, Био-Анагаахын сургууль
[2]Улсын Хоёрдугаар Төв Эмнэлэг
Цахим шуудан: yesoyesunzaya@gmail.com, Утас: 80038118

Түлхүүр үг:

Аминогликозид
Ацетилжих
Аденилжих
Фосфоржих
Мультиплекс полимеразын гинжин урвал

Товч утга:

Үндэслэл: Аминогликозидын бүлгийн антибиотикийг голчлон *Escherichia coli (E.coli), Klebsiella pneumoniae (K.pneumoniae), Pseudomonas aeruginosa (P.aeruginosa)* зэрэг аэроб Грам сөрөг нянгаар үүсгэгдсэн халдварыг эмчлэхэд хэрэглэдэг. Эмгэгтөрөгч бичилбиетэн аминогликозидыг хувиргагч энзим (АХЭ) үйлдвэрлэж, генийг хөндлөн болон босоо чиглэлд дамжуулан аминогликозидын тэсвэржилтийг үүсгэдэг. АХЭ-ийг кодолдог *Aac (6')-Ib*, *Ant (3'')-Ia, Aph (3')-Ia, Aac (3)-II* генүүд ихэвчлэн өргөтгөсөн үйлдэлтэй бетта лактамаз (ӨҮБЛ)-ийн ген агуулсан плазмид дээр байрладаг тул нян аминогликозид болон өргөтгөсөн үйлдэлтэй цефалоспоринд нэгэн зэрэг тэсвэртэй болж, халдварын эмчилгээнд нэлээд хүндрэл үүсгэдэг. **Зорилго:** Мухар олгойн сорьцноос ялган дүйсэн *E.coli*-ийн аминогликозидод тэсвэржилтийн генийг илрүүлж, хэвшинжийг тодорхойлох. **Үр дүн:** Улсын Хоёрдугаар Төв Эмнэлэг (УХТЭ)-ийн нян судлалын лабораторид 2021 оны 1-6 сарын хугацаанд цуглуулсан мухар олгойн сорьцонд илэрсэн 107 *E.coli*-д аминогликозидод тэсвэржилтийн ген хэв шинжийг тодорхойлоход гентамицин, тобрамицинд тэсвэржилтийг үүсгэдэг ацетилжүүлэгч энзим кодлогч *Aac (3')-II* ген 68 омогт, стрептомицинд тэсвэржилтийг үүсгэдэг аденилжүүлэгч энзим кодлогч *Ant-(3')-Ia* ген 37 омогт, *Aac (3')-II, Ant-(3')-Ia* генүүд 27 омогт хавсарч илэрлээ. Тобрамицин, амикацинд тэсвэржилтийг үүсгэдэг ацетилжүүлэгч энзим кодлогч *Aac(6')-Ib* ген, канамицин, неомицинд тэсвэржилтийг үүсгэдэг фосфоржуулагч энзим кодлогч *Aph(3')-Ia* генүүд илэрсэнгүй. АХЭ-ийн генүүд илэрсэн дүнг DEC болон энгийн *E.coli*-д харьцуулж авч үзэхэд *Aac (3)-II ген* 32 (47%), 36 (53%) *омогт, Ant (3'')-Ia ген 20* (36.4%), 16 (30.8%) омогт, уг 2 ген хавсран илэрсэн тохиолдол 14 (25.5%), 13 (25%) омогт тус тус тодорхойлогдлоо. **Дүгнэлт:** Мухар олгойн сорьцноос ялган дүйсэн *E.coli*-ийн омгуудад аминогликозидод тэсвэржилтийг үүсгэдэг ацетилжүүлэгч энзим кодлогч *Aac (3')-II* ген, аденилжүүлэгч энзим кодлогч *Ant-(3')-Ia* ген илэрлээ.

Үндэслэл: Мухар олгойн цочмог үрэвсэл нь мэс заслын яаралтай тусламжийн хамгийн түгээмэл тохиолдлын нэг юм. Жилд 300000 орчим мухар олгойн хагалгаа хийгддэгийн 25%[1-2] нь перитонит, сепсис, гэдэсний түгжрэл, буглаа, *ухжил, цооролт* зэргээр хүндэрдэг.[3,8] Мухар олгойн оношт тавигдсанаас хойш ампициллин, гентамицин, клиндамицин агуулсан гурвалсан антибиотик эмчилгээг удирдамжийн дагуу хийдэг.[4] Антибиотикийг буруу, хэтрүүлж хэрэглэснээр нянгийн эмэнд тэсвэржилт улам бүр нэмэгдэж олон эмэнд тэсвэртэй (MDR), өргөн хүрээний эмэнд тэсвэртэй (XDR), бүх эмэнд тэсвэртэй (PDR) омог үүсэхэд хүргэж байна.

Аминогликозидын бүлэгт нянгийн эсрэг өргөн хүрээний үйлдэлтэй стрептомицин, канамицин, амикацин, гентамицин, тобромицин, нетилмицин, неомицин зэрэг багтдаг бөгөөд ихэвчлэн *E.coli, K.pneumoniae, P.aeruginosa* зэрэг аэроб Грам сөрөг нянгаар үүсгэгдсэн халдварын эмчилгээнд ашигладаг.[6] Гэсэн хэдий ч эмгэгтөрөгч бичилбиетэн АХЭ үйлдвэрлэж, генийг хөндлөн болон босоо чиглэлд дамжуулан аминогликозидын тэсвэржилтийг үүсгэдэг.[5,6] Аминогликозидын бүлгийн антибиотикт тэсвэржилт нь энзим ялгаруулж идэвхгүйжүүлэх, аминогликозидын нэвтрэх чадварыг бууруулах, рибосомын бай хэсгийг өөрчлөх, эсэд нэвтэрсэн аминогликозидыг идэвхтэй гадагшлуулах гэсэн үндсэн 4 механизмаар явагддаг бөгөөд хамгийн түгээмэл тохиолддог нь энзим ялгаруулж идэвхгүйжүүлэх юм.

Нян ацетилтрансфераза (AAC), нуклеотидилтрансфераза (ANT), фосфотрансфераза (APN) энзим ялгаруулж, ацетилжих, аденилжих, фосфоржуулан аминогликозидыг хувиргадаг. Эдгээр АХЭ-ийг кодолдог *Aac (6')-Ib*, *Ant (3'')-Ia, Aph (3')-Ia, Aac (3)-II* генүүд нь ӨҮБЛ-ийн ген агуулсан плазмид дээр байрласнаар аминогликозид болон өргөтгөсөн үйлдэлтэй цефалоспоринд нэгэн зэрэг тэсвэртэй болж, халдварын эмчилгээнд нилээд бэрхшээлтэй асуудал болсоор байна.[1,6,7]

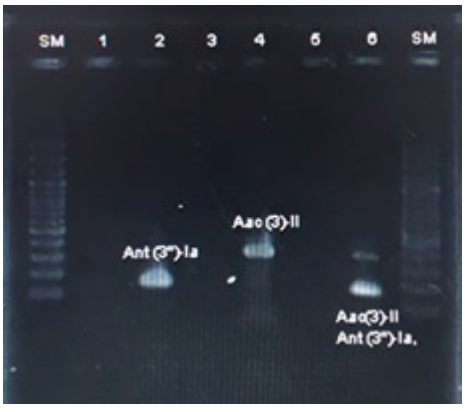
Зорилго: Мухар олгойн сорьцноос илэрсэн *E.coli*-ийн аминогликозидод тэсвэржилтийн генийг мультиплекс ПГУ-аар илрүүлж, хэвшинжийг тодорхойлох

Арга аргачлал: УХТЭ-ийн нян судлалын лабораторит 2021 оны 1-6 сарын хугацаанд ирсэн мухар олгойн сорьцыг авч 2 цагийн дотор Columbia Naladixic Acid Agar (CNA), макконг, цустай тэжээлт орчинд тарьж 36˚C хэмд 18-24 цаг өсгөвөрлөн VITEK2 анализатороор баталгаажууллаа. Өсгөврөөс нянгийн булинга бэлтгэн бүцалгах аргаар ДНХ-г ялгаж суулгалт үүсгэгч *E.coli*-ийн хэвшинжүүдийг мультиплекс ПГУ-аар ялган дүйлээ. АХЭ-ийг кодолдог *Aac (6')-Ib*, *Ant (3'')-Ia, Aph (3')-Ia, Aac (3)-II* генүүдийг өвөрмөц праймер ашиглан мультиплекс ПГУ-аар олшруулаа. Олширсон бүтээгдэхүүнийг 2%-ийн агарозын гелд 130 вольтод 30 минут гүйлгэж, этидиум бромидоор 30 минут будаж илрүүлэв (Хүснэгт 1).

Хүснэгт 1. Аминогликозидод тэсвэржилтийн генүүдийг илрүүлэхэд ашигласан праймерын дараалал[5]

Ген	Праймер	Дараалал (5'-3')	Бүтээгдэхүүний урт (хн)
Aac (6')-Ib	Aac (6')-I-F	AAACCCCGCTTTCTCGTAGC	112
	Aac (6')-I-R	AAACCCCGCTTTCTCGTAGC	
Ant (3'')-Ia	Ant (3'')-F	CCGGTTCCTGAACAGGATC	180
	Ant (3'')-R	CCCAGTCGGCAGCGACATC	
Aph (3')-Ia	Aph (3')-F	CAAGATGGATTGCACGCAGG	317
	Aph (3')-R	TTCAGTGACAACGTCGAGCA	
Aac (3)-II	Aac (3)-II-F	GCTCGGTTGGATGACAAAGC	379
	Aac (3)-II-R	AGGCGACTTCACCGTTTCTT	

Үр дүн: Аминогликозидод тэсвэржилтийн ген хэв шинжийг тодорхойлоход гентамицин, тобрамицинд тэсвэржилтийг үүсгэдэг ацетилжүүлэгч энзим кодлогч *Aac (3')-II* ген 68 омогт, стрептомицинд тэсвэржилтийг үүсгэдэг аденилжүүлэгч энзим кодлогч *Ant-(3')-Ia* ген 37 омогт, *Aac (3')-II, Ant-(3')-Ia* генүүд 27 омогт хавсарч илэрлээ. Тобрамицин, амикацинд тэсвэржилтийг үүсгэдэг ацетилжүүлэгч энзим кодлогч *Aac(6')-Ib* ген, канамицин, неомицинд тэсвэржилтийг үүсгэдэг фосфоржуулагч энзим кодлогч *Aph(3')-Ia* генүүд илэрсэнгүй. Аминогликозидод тэсвэржилтийн ген хэв шинжийг ПГУ-аар илрүүлсэн дүнг 1-р зургаар төлөөлүүлэн харууллаа.



Зураг 1. Аминогликозидод тэсвэржилтийн генийг *илрүүлсэн*

*ПГУ-ын үр дүнгийн зураглал***.** SM- 100 *хн*-ийн нарийвчлалтай хэмжээ тогтоогуур, 2-р *сорьцонд* 180 хн урттай *Ant (3'')-Ia*, 4-р *сорьцонд* 379 хн урттай *Aac (3)-II,* 6-р *сорьцонд тус 2 генийн бүтээгдэхүүн олширсон нь харагдаж байна.*

Мухар олгойн сорьцонд илэрсэн 107 *E.coli*-ийн 51.4% (55/107)-д DEC-ийн эмгэгтөрөгч хэвшинж илэрлээ. АХЭ-ийн генүүд илэрсэн дүнг DEC болон энгийн *E.coli*-д харьцуулж авч үзэхэд *Aac (3)-II ген* 32 (47%), 36 (53%) *омогт, Ant (3'')-Ia ген 20* (36.4%), 16 (30.8%) **омогт, уг** 2 ген хавсран илэрсэн тохиолдол 14 (25.5%), 13 (25%) омогт тус тус тодорхойлогдлоо. АХЭ-ийн генүүд илэрсэн дүнг DEC болон *E.coli*-ийн омгуудад харьцуулан үнэлэхэд тэсвэржилтийн хувь ойролцоо буюу статистикийн ач холбогдол бүхий ялгаа ажиглагдсангүй (p>0.05).

Хэлцэмж: Бидний судалгаагаар аминогликозидод тэсвэржилтийн ген хэв шинжийг тодорхойлоход гентамицин, тобрамицинд тэсвэржилтийг үүсгэдэг ацетилжүүлэгч энзим кодлогч *Aac (3')-II* ген 68 омогт, стрептомицинд тэсвэржилтийг үүсгэдэг аденилжүүлэгч энзим кодлогч *Ant-(3')-Ia* ген 37 омогт, *Aac (3')-II, Ant-(3')-Ia* генүүд 27 омогт илэрлээ. Тобрамицин, амикацинд тэсвэржилтийг үүсгэдэг ацетилжүүлэгч энзим кодлогч *Aac(6')-Ib* ген, канамицин, неомицинд тэсвэржилтийг үүсгэдэг фосфоржуулагч энзим кодлогч *Aph(3')-Ia* генүүд илэрсэнгүй. Shi Y, Li C (2020) нар *E.coli*-ийн 35 омогт аминогликозидыг хувиргагч энзим кодлодог генийг ПГУ-аар илрүүлэхэд 26 (59.2%) *aac(60)-Ib*, 16 (36.2%) *aph(3'')-Ib*, 7 (15.9%) *aac(3-)Ia*, 2 (4.6%) *ant(2'')-Ia* тодорхойлогджээ.

Аминогликозидын хувиргагч энзимийг кодлодог *aph(3'')-Ib, aac(3)-Ia, aac(60)-Ib гурван ген зэрэг илэрч байгаа нь ажиглагджээ.* Мөн 14 (31.2%) омогт хоёр ген нэгэн зэрэг илэрсэн бөгөөд эдгээрээс *Ant (2'')-Ia* ба *aac(6')-Ib* ген 1 (2.3%) омогт, *aac(3)-Ia, aac(60)-Ib* ген 6 (13.6%) омогт, *aac(60)-Ib* ба *aph(3'')-Ib* ген 7 (15.9%) омогт илэрсэн бол 19 (43.2%) омогт зөвхөн нэг ген илэрсэн байна.[4] Xiao Y, Hu Y (2012) нарын судалгаагаар *rrs, aacC2, aacA-aphD, aphA3* гэсэн дөрвөн генийг олшруулсан бөгөөд *rrs* хамгийн өндөр хувьтай буюу 26 (68.4%), *aacC* ген 18 (47.36%), *aphA3* ген 13 (34.2%), *aacC-aphD* ген 7 (18.42%) илэрсэн байна.[6]

Дүгнэлт: Мухар олгойн сорьцноос ялган дүйсэн *E.coli*-ийн омгуудад аминогликозидод тэсвэржилтийг үүсгэдэг ацетилжүүлэгч энзим кодлогч *Aac (3')-II* ген, аденилжүүлэгч энзим кодлогч *Ant-(3')-Ia* ген илэрлээ.

Ном зүй:

1. *Rentea, R. M., & St. Peter, S. D. (2017). Pediatric appendicitis. The Surgical Clinics of North America, 97(1), 93–112.*
2. *Turel, O., Mirapoglu, S. L., Yuksel, M., Ceylan, A., & Gultepe, B. S. (2019). Perforated appendicitis in children: antimicrobial susceptibility and antimicrobial stewardship. Journal of Global Antimicrobial Resistance, 16, 159–161.*
3. *Viel-Thériault, I., Bettolli, M., Toye, B., Harrison, M.-A., & Le Saux, N. (2019). Contemporary microbiology and antimicrobial treatment of complicated appendicitis: The value of a short-term study. The Pediatric Infectious Disease Journal, 38(11), e290–e294.*
4. *Shi Y, Li C, Yang G, Xia X, Mao X, Fang Y, Zhang AM, Song Y. A rapid and accurate method for the detection of four aminoglycoside modifying enzyme drug resistance gene in clinical strains of Escherichia coli by a multiplex polymerase chain reaction. PeerJ. 2020 Apr 10;8:e8944. doi: 10.7717/peerj.8944. PMID: 32309051; PMCID: PMC7153551.*
5. *Ojdana D, Sieńko A, Sacha P, Majewski P, Wieczorek P, Wieczorek A, Tryniszewska E. Genetic basis of enzymatic resistance of E. coli to aminoglycosides. Adv Med Sci. 2018 Mar;63(1):9-13. doi: 10.1016/j.advms.2017.05.004. Epub 2017 Jul 29. PMID: 28763677.*
6. *Xiao Y, Hu Y. The major aminoglycoside-modifying 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 Feb;18(1):42-6. doi:10.1089/mdr.2010.0190. Epub 2011 Nov 8. PMID: 22066787.*
7. *Mir AR, Bashir Y, Dar FA, Sekhar M. Identification of Genes Coding Aminoglycoside Modifying Enzymes in E. coli of UTI Patients in India. ScientificWorldJournal. 2016;2016:1875865. doi: 10.1155/2016/1875865. Epub 2016 Jun 15. PMID: 27403451; PMCID: PMC4926017.*
8. *Miyauchi H, Okata Y, Hatakeyama T, Nakatani T, Nakai Y, Bitoh Y. Analysis of predictive factors for perforated appendicitis in children. Pediatr Int. 2020 Jun;62(6):711-715. doi: 10.1111/ped.14148. Epub 2020 Jun 8. PMID: 31957108.*
9. *Viel-Thériault I, Bettolli M, Toye B, Harrison MA, Le Saux N. Contemporary Microbiology and Antimicrobial Treatment of Complicated Appendicitis: The Value of a Short-term Study. Pediatr Infect Dis J. 2019 Nov;38(11):e290-e294. doi: 10.1097/INF.0000000000002420. PMID: 31365479.*

Detection of genes coding aminoglycoside modifying enzymes in *E. coli* isolates from surgically resected appendices

Yesunzaya G[1,2], Sarantuya J[1], Munkhdelger Ya[1]

[1]School of Biomedicine, MNUMS
[2]Second State Central Hospital
E-mail: yesoyesunzaya@gmail.com, Tel: 80038118

Background: Aminoglycoside antibiotics are mainly used to treat infections caused by aerobic Gram-negative bacteria such as *E.coli, K.pneumoniae*, and *P.aeruginosa*. Pathogenic microorganisms harbor of aminoglycoside-modifying genes, enabling enzymatic inactivation of aminoglycosides by acetylation, adenylation, or phosphorylation, resulting in elevated resistance to aminoglycoside antibiotics. These genes including *Aac (6')-Ib, Ant (3') - Ia, Aph (3')-Ia, Aac (3')* are localized on plasmid with genes beta-lactamases. Thus pathogenics to become resistance to either aminoglycosides and extended- spectrum cephalosporins, resulting in complicated the selection of antibiotics for empirical treatment in infection.
Aim: For this reason, we aimed to determine of aminoglycoside resistance genes in *E. coli* in isolates from surgically resected appendices.
Results: In our study result shows that DEC pathogens were detected in 51.4% (55/107) of 107 E.coli samples, identification from surgically resected appendices' samples which were collected in the bacteriological laboratory of the Second general hospital, between January and June 2021. The *Aac* II *(3')*, encoding an acetylating enzyme that induces resistance to gentamicin and tobramycin, was detected 68 strains. The *Ant (3')-Ia* gene encoding enzyme that causes resistance to streptomycin, was found in 37 strains, and the *Aac(3')-II* gene, and the *Ant (3')-Ia* gene, in 27 strains. Acetylating enzyme encoding *Aac(6')-Ib* gene, which is resistant to tobramycin and amikacin, and phosphorylating enzyme encoding *Aph (3')-Ia*, which is resistant to kanamycin and neomycin, were not detected.
Conclusion: *Aac (3')-II* gene for acetylating enzyme encoding and *Ant (3')-Ia* gene for adenylating enzyme encoding, which is resistant to aminoglycosides, were found in *E. coli* in isolates from surgically resected appendices.

Keywords: Aminoglycoside modifying enzymes, aminoglycoside resistance, *E.coli*, multiplex polymerase chain reaction