

Colistin: Mechanisms of antibiotic resistance and logical approach to its use

Fariba Lahoopour¹

1. Assistant Professor, Department of Medical Laboratory Sciences, Faculty of Paramedical Sciences, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran., (corresponding author), Tel: 087-33664658, E-mail: lahoopour.f@muk.ac.ir, ORCID ID: 0000-0003-3669-0392

ABSTRACT

Background and Aim: In recent decades, widespread antibiotic resistance in nosocomial infections due to gram-negative bacteria which can cause high mortality rates have significantly increased, especially in intensive care units. Polymyxin resistance, colistin in particular, as the last therapeutic resort, has been reported globally. The purpose of this study was to evaluate the mechanisms of resistance to colistin and the logical approach to the use of this antibiotic.

Materials and Methods: The research method was a narrative review. Data were collected by searching WOS (Web of Science), Scopus, PubMed, SID (Scientific Information Database), Science Direct, and Google Scholar search engines by using the keywords of colistin, antibiotic resistance, gram-negative bacteria, epidemiology, Iran, extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs), molecular mechanisms or combinations of them from 2000 to 2019.

Results: The most common molecular mechanisms of colistin resistance were *mcr-1*, *mcr*-like genes, increased *pmrC* expression, outer membrane changes in gram-negative bacteria, and mutations in the *mgrB*. Combination therapy using colistin with other antibiotics was an effective treatment strategy in life-threatening infections.

Conclusion: *mcr-1* and *pet-1* transferase were the most prevalent molecular mechanisms for colistin resistance and combinations of colistin with other antibiotics were effective in the treatment of severe infections.

Keywords: Colistin, Gram-negative bacteria, Molecular mechanisms, Antibiotic resistance, Combination therapy

Received: Sep 15, 2019

Accepted: Mar 14, 2020

How to cite the article: Fariba Lahoopour. Colistin: Mechanisms of antibiotic resistance and logical approach to its use. SJKU. 2021; 25(6):90-102.

Copyright © 2018 the Author (s). Published by Kurdistan University of Medical Sciences. This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-Non Commercial License 4.0 (CCBYNC), where it is permissible to download, share, remix, transform, and buildup the work provided it is properly cited. The work cannot be used commercially without permission from the journal

گلیستین: مکانیسم‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی و رویکردهای تجویز منطقی آن

فریبا لاهورپور^۱

۱. استادیار، گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران (نویسنده مسئول)، تلفن: ۰۸۷-۳۳۶۶۴۶۵۸، پست الکترونیک: lahoorpour.f@muk.ac.ir، کد ارکید: ۳۹۲-۳۶۶۹-۰۰۰۳-۰۰۰۰

چکیده

زمینه و هدف: در طی ده‌های گذشته، افزایش چشمگیری در مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی وسیع در عفونت‌های بیمارستانی ناشی از باکتری‌های گرم منفی بیماری‌زا و با مرگ‌ومیر بالا، مخصوصاً در بخش‌های مراقبت ویژه بوجود آمده است. در این میان مقاومت به پلی میکسین‌ها، به ویژه گلیستین، به عنوان آخرین راه حل درمانی، نیز در سطح جهانی گزارش شده است. هدف از این مطالعه ارزیابی مکانیسم‌های مقاومت به گلیستین و رویکردهای منطقی برای استفاده از گلیستین است.

مواد و روش‌ها: این مقاله یک مطالعه مروری روایتی است و داده‌های این پژوهش با جستجو در پایگاه‌های WOS (Web of Science)، Science Direct، PubMed، Scopus، SID (Scientific Information Database) و موتور جستجوگر google scholar با استفاده از واژگان کلیدی گلیستین، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، گرم منفی، اپیدمیولوژی، ایران، بتالاکتامازهای با طیف وسیع، مکانیسم‌های مولکولی و یا ترکیبی از آن‌ها، از سال ۲۰۰۰ تا سال ۲۰۱۹ جمع‌آوری شده است.

یافته‌ها: مکانیسم‌های مولکولی مقاومت به گلیستین شامل *mcr-1*، ژن‌های *mcr-like*، افزایش بیان *pmrC*، تغییرات غشای خارجی در باکتری‌های گرم منفی و جهش در *mgrB* بود. درمان ترکیبی توسط گلیستین به همراه سایر آنتی‌بیوتیک‌ها یک استراتژی درمانی موثر در عفونت‌های تهدیدکننده زندگی بود.

نتیجه‌گیری: *mcr-1* و *pet-1* ترانسفراز از شایع‌ترین مکانیسم‌های مولکولی مقاومت به گلیستین بودند و داروهای ترکیبی با گلیستین یک رژیم قابل توجه در برابر عفونت‌های شدید بود.

کلمات کلیدی: گلیستین، باکتری‌های گرم منفی، مکانیسم‌های مولکولی، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، درمان ترکیبی

وصول مقاله: ۹۸/۶/۲۴ اصلاحیه نهایی: ۹۸/۱۲/۱۲ پذیرش: ۹۸/۱۲/۲۴

مقدمه

کلیستین و گستره فعالیت در باکتری‌های گرم منفی:

مقاومت دارویی در عفونت‌های ناشی از باکتری‌های گرم منفی همچنان در حال افزایش است و به‌عنوان یک چالش بزرگ سلامت عمومی در دنیا به شمار می‌آید. این تهدید در حال رشد، علت مرگ ۷۰۰۰۰۰ نفر در سراسر جهان است و پیش‌بینی می‌شود تا سال ۲۰۵۰، منجر به ۱۰ میلیون مرگ در سال شود. لذا این مسئله نیازمند برنامه‌ریزی برای مبارزه با آن است (۱). وجود مقاومت در این باکتری‌ها گرم منفی بواسطه کروموزوم یا پلاسمید یا مکانیسم‌های اکتسابی مقاومت‌های چند دارویی (Multi Drug Resistance, MDR)، مقاومت دارویی وسیع (Extended Drug Resistance, XDR) و یا با مقاومت به تمامی داروها (PDR Pan Drug Resistance)، شناخته شوند. بیشترین مقاومت با واسطه پلاسمید در سال‌های اخیر نسبت به کلیستین، آنتی‌بیوتیکی که آخرین خط درمان بر علیه گستره مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی است، گزارش شده است. مقاومت آنتی‌بیوتیکی در باکتری‌های گرم منفی نسبت به بتالاکتامازهای با طیف وسیع (ESBL, Extended Spectrum Betalactamases) دیده شده است. این آنزیم‌ها قادر به هیدرولیز حلقه بتالاکتام در سفالوسپورین‌های با طیف وسیع، پنی‌سلین‌ها، منوباکتام‌ها و بعضی از کارباپنم‌ها مخصوصاً کارباپنم‌های KPC می‌باشند (۲-۴). امروزه بیش از ۶۰۰ نوع ESBL شناخته شده است که بیشتر آن‌ها متعلق به آنزیم‌های هیدرولیزکننده Cefotaxime شامل (SHV) Sulphydryl Variable، Cefotaximase (CTX) و Temoneira Munich (TEM) است (۱).

مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی وسیع نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های خط اول و دوم درمان نظیر مقاومت به سفالوسپورین‌ها در عفونت‌های بیمارستانی ناشی از اسیتوباکتر بومانی و پseudomonas آئروژینوزا (باکتری‌های گرم منفی غیر تخمیر کننده) و کلبسیلا پنومونیه مخصوصاً کلبسیلا پنومونیه تولید

کننده کارباپنماز (KPC) با مرگ و میر بالایی در بخش‌های مراقبت ویژه بیمارستان‌ها همراه و در دنیا به‌عنوان یک معضل بهداشتی-درمانی مطرح است. این مقاومت آنتی‌بیوتیکی باعث بیماری‌های مختلفی مانند عفونت دستگاه ادراری، سپتی‌سمی، پنومونی و عفونت‌های داخل شکمی در بیماران بستری در بخش‌های مختلف بیمارستان می‌شود (۵-۷). پنومونی‌های وابسته به ونتیلاتور (VAP) Ventilator Associated Pneumonia از مهم‌ترین علل مرگ و میر در بخش‌های مراقبت ویژه و از عوامل خطر مرتبط مصرف بی‌رویه آنتی‌بیوتیک است (۸، ۹).

ظهور کلبسیلا پنومونیه مقاوم به کلیستین (Colistin Resistance- *Klebsiella Pneumonia*, CR-KP) نیز یک مشکل بهداشت عمومی در دنیا است (۱۰، ۱۱). ایجاد مقاومت بالاتر برابر کارباپنم‌ها و کلیستین موجود در عناصر ژنتیکی متحرک یک نگرانی جدی در سلامت عمومی بشمار می‌آید. تشخیص، نظارت و کنترل انتشار انتروباکتریاسه مقاوم به داروها برای ریشه‌کنی عفونت‌های ناشی از آنها بسیار مهم است (۱۲).

کسب پلاسمیدهای مقاومت و وقوع موتاسیون‌های کروموزومی در کلبسیلا پنومونیه، سبب بروز مقاومت به فلورکینولون‌ها می‌شود. در این موارد ادامه درمان با کارباپنم‌هایی مانند ایمپی‌پنم و مروپنم، به‌عنوان آخرین داروهای خط درمان انجام می‌شود. اهمیت مقاومت به کلیستین در کلبسیلا پنومونیه (CR-KP) با پژوهشی در کشورمان مورد تأیید قرار گرفته است (۱۳). در سال‌های اخیر مقاومت به کارباپنم‌ها درمان را به سوی آخرین امیدهای دارویی یعنی کلیستین سوق داده است (۴، ۱۴، ۱۵).

اسیتوباکتر کوکوباسیل گرم منفی غیر تخمیرکننده ای است که مهم‌ترین گونه آن بومانی، عامل بیماری‌های مهمی مانند پنومونی، سپتی‌سمی، عفونت دستگاه ادراری، عفونت‌های زخم پوستی، اندوکاردیت و مننژیت است. این عفونت‌ها علاوه بر بزرگسالان، در نوزادان و کودکانی نیز که به دلیل استفاده از وسایل ته‌اجمی در طول بستری در معرض عفونت‌های میکروبی قرار گرفته‌اند نیز دیده می‌شود (۴، ۵).

تحت عنوان مقاومت انطباقی گزارش شد. یافته های تحقیق فوق هشدار جدی برای مکانیسم مقاومت/اسیتوباکتر بومانی نسبت به گلیستین است و نشان می دهد که این مقاومت ممکن است بیشتر به دلیل رژیم های درمانی پایین تر از دوز توصیه شده برای بعضی محصولات گلیستین مانند متان سولفونات (methane sulfonate) ایجاد شده باشد. انستیتوی استاندارد های بالینی و CLSI مقادیر $MIC \leq 2 \mu g/ml$ را به عنوان دوز حساس و مقادیر $MIC \geq 4 \mu g/ml$ را به عنوان دوز مقاوم گلیستین اعلام کرده است (۲۰)

سومین باکتری گرم منفی بیماری زای اصلی بیمارستانی پseudomonas ها هستند که مکانیسم های متفاوتی را برای ایجاد MDR و XDR به کار می برند. از جمله این مکانیسم ها ESBL، کارباپنمازها و 16srRNAmethylase هستند که باعث ایجاد مقاومت در تمامی گونه های بالینی که با آمینوگلیکوزیدها درمان می شوند. یکی از مهم ترین مکانیسم های ایجاد مقاومت آنتی بیوتیکی نسبت به کارباپنم ها، جهش یا عدم حضور ژن و نیز نقص پورین (*oprD*) در غشای بیرونی است. با این حال، جهش ژن *oprD* و تولید بیش از حد *AmpC* مهم ترین مکانیسم های مقاومت ذاتی در برابر کارباپنم هستند. از بین رفتن پورین *OprD* در غشای بیرونی باعث مسدود شدن ورود کارباپنم ها به ویژه امی پنم به داخل سلول می شود (۲۶).

با ظهور و گسترش مقاومت باکتری های گرم منفی بیماری زا نسبت به پنی سیلین ها و سفالوسپورین ها کارباپنم ها برای درمان استفاده شدند. به دلیل گسترش جهانی مقاومت به این داروها نیز، آخرین امیدهای خط درمان یعنی پلی میکسین ها مخصوصاً گلیستین مطرح و مورد استفاده قرار گرفتند. هرچند که گزارش های متعددی از مقاومت به این دارو نیز در سراسر جهان گزارش شده است (۲۷, ۲۸). همچنین در تحقیقی که در کشورمان انجام شده است نیز اهمیت مقاومت به گلیستین در پseudomonas آئروژینوزای مقاوم به کارباپنماز (CRPA) (Carbapenem Resistance) (*Pseudomonas Aeruginosa*) که ناقل New Delhi Metalobetalactamase (NDM-1) است، مورد تأکید قرار گرفته است (۲۹). NDM-1 آنتی بیوتیکی است که

مقاومت آنتی بیوتیکی در اسیتنو باکترها بواسطه مکانیسم های اکتسابی نظیر تغییر آنزیمی، موتاسیون در ژن هدف، تغییر نفوذپذیری غشا خارجی و افزایش بیان ایفلاکس پمپ ها است (۴, ۱۶). ارتباط بین مقاومت به گلیستین و بیماری زایی در جدایه های/اسیتوباکتر بومانی بطور بارزی مشخص شده است (۱۷).

سیستم های ایفلاکس نوع RND (-Resistance) (nodulation division) کروموزومی نقش مهمی در شروع و پیشرفت مقاومت آنتی بیوتیکی، بیماری زایی باکتری ها و تشکیل بیوفلم در باکتری های گرم منفی مخصوصاً اسیتوباکتر بومانی دارد. در تحقیقی مقاومت/اسیتوباکتر بومانی به گلیستین را با پمپ های ایفلاکس RND مرتبط نشان داده اند. این پمپ های ایفلاکس عمدتاً از سه بخش تشکیل شده اند: پروتئین فیوژن، پروتئین انتقال غشاء سیتوپلاسمی و پروتئین غشای خارجی (۲۰-۱۸). مطالعات قبلی منتشر شده نشان داده اند که بیان بیش از حد *AdeABC AdeFGH AdeIJK* به عنوان سه پمپ اصلی، به مقاومت آنتی بیوتیکی در ایزوله های بالینی *A. baumannii* کمک می کند (۲۱, ۲۲)

علاوه بر مکانیسم های مقاومت دارویی یادشده، ظهور جدایه های اسیتوباکتر بومانی مقاوم بواسطه مکانیسم های مختلف دیگر (Heteroresistance) هشداردهنده است. نتیجه یک پژوهش در شمال کشورمان (گرگان) نشان داد که اکثر جدایه های/اسیتوباکتر بومانی مقاوم به کارباپنم تولید کننده اگر اسیلیناز نیز بودند (۲۳). در نهایت درمان سویه های واجد مقاومت چند دارویی (MDR) و مقاومت های دارویی وسیع (XDR) درمان را به سوی استفاده از آخرین امید درمانی یعنی گلیستین کشانده است. مقاومت به گلیستین در اسیتوباکتر بومانی با اضافه کردن فسفو اتانل آمین به لیپید A توسط محصول کد شده توسط ژن *pmrC* ایجاد می شود (۲۴). فنوتیپ مقاومت به گلیستین که هنوز هم به خوبی شناخته نشده است، به نام های دیگری نیز نظیر هترو و مقاومت انطباقی در اسیتوباکتر بومانی گزارش شده است (۲۵). برای اولین بار در مطالعه ای مقاومت به گلیستین

باعث مقاومت باکتری‌ها به گستره وسیعی از آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام شامل کارباپنم‌ها می‌شود. محققین تا سال ۲۰۱۵ در بیش از ۷۰ کشور جهان این آنزیم را شناسایی کردند. MBL یک نوع جدید از NDM-1 است که تمامی داروهای بتالاکتام به جز آزترونام را غیر فعال می‌کند (۳۰). اپیدمیولوژی:

کلیستین از پرمصرف‌ترین آنتی‌بیوتیک‌های خانواده پلی میکسین هاست که بیش از ۵۰ سال است که وارد بازار دارویی شده است. این دارو جزو پلی‌پپتیدهای کاتیونیک است که از باسیلوس کلتینوس تهیه می‌شود. این ترکیب هنوز بر علیه باکتری‌های گرم منفی بیماری‌زا مؤثر است. *mcr-1* برای اولین بار در سال ۲۰۱۵ در جنوب چین کشف شد ولی تاکنون افزایش مقاومت به این آنتی‌بیوتیک در سراسر جهان گزارش شده است (۷، ۲۷، ۳۱). سازمان بهداشت جهانی در سال ۲۰۱۴ اعلام کرد که اطلاعات در مورد مقاومت به خاصیت ضد میکروبی کلیستین به دلیل مشکل بودن دسترسی به داده‌ها و ظرفیت‌های پایین آزمایشگاهی و آماری در آفریقا محدود است. هرچند که الجزایر، تونس و مصر مقاومت به کلیستین را در قسمت جنوب آفریقا گزارش کرده‌اند. بالاترین میزان مقاومت به کلیستین در آسیا، سپس اروپا و با کمترین شیوع در شمال و جنوب آمریکا گزارش شده است. تعداد ۱۰ گزارش از اروپا با شیوع کمتر از ۰.۷٪، دو مورد از بلغارستان و اسپانیا با میزان شیوع بالای ۱۶.۷٪ و ۱۹.۱٪ مشاهده شد. در گزارش دیگری از اسپانیا شیوع بالای ۴۰.۷٪ را اعلام کردند. در ۷ مورد از ۸ مورد گزارش آسیا میزان شیوع مقاومت به کلیستین کمتر از ۱۲٪ بود. کشور کره بالاترین میزان مقاومت یعنی ۳۰.۶٪ را گزارش کرده است (۳۲، ۳۳). اولین گزارش‌های میزان شیوع مقاومت به کلیستین از کشور هندوستان گزارش شد. در حال حاضر این مقاومت از کشورهای مدیترانه شرقی و آسیای جنوب شرقی (کره و سنگاپور) گزارش می‌شود که نشان دهنده امکان گسترش مقاومت به کلیستین و ناکارآمدی این دارو به عنوان یکی از

آخرین گزینه‌های درمانی می‌باشد (۷، ۲۷، ۳۴). مقاومت به کلیستین در شمال اروپا و کشورهای آسیای شمالی هنوز گزارش نشده است. علاوه بر این، تقریباً از تمامی کشورهای مدیترانه نظیر ترکیه، یونان، اسپانیا، پرتغال، مصر، الجزایر و تونس گزارش‌هایی از مقاومت به کلیستین وجود دارد که می‌تواند به دلیل مهاجرت افراد از کشورهای در حال توسعه به اروپا و انتقال پدیده مقاومت به کلیستین باشد (۱، ۲۱). در تحقیقی که در جنوب شرق آسیا بر روی مقاومت به کلیستین و کارباپنم‌ها انجام شد، تنها ۳ کشور از ۱۳ کشور جهان داده‌های مربوط به داروهای فوق را به سازمان جهانی بهداشت ارائه کرده‌اند (۳۵).

در مطالعه‌ای که در شمال شرق ایران انجام گرفت، تمامی ۳۹ نمونه *اسیتوباکتر بومانی* جدا شده از بیماران بستری شده با مقاومت چندگانه دارویی (MDRAB) *Multi Drug Resistance A. Baumannii* به کلیستین حساس بودند (۳۶). در تحقیق دیگری از کشورمان، از کل ۱۰۰ نمونه CR-KP، افزایش ۵۰ درصدی از مقاومت به کلیستین در جدایه‌ها انجام گرفته از نمونه‌های بالینی مشاهده شد. این وضعیت با توجه به شیوع بالای کارباپنمازهای *blaOXA-48* و *blaOXA* و مقاومت به کلیستین تهدیدهای نگران‌کننده‌ای هستند و ضرورت اقدام فوری برای پیشگیری از گسترش ایزوله‌های مقاوم کلبسیلا پنومونیه در برابر کارباپنم - کلیستین را در ایران مورد تأکید قرار داده است (۱۳).

از نتایج حاصل از پژوهشی در ایران چنین نتیجه‌گیری شده است که مقاومت به کلیستین در *اسیتوباکترهای بومانی* MDR در ایران نیز رو به افزایش و مشابه با کره در آسیا است. این مسئله بیانگر این حقیقت است که مقاومت به کلیستین در آسیا نیز در حال افزایش است (۳۷). در سال ۲۰۱۵ همچنین ۴ مورد *اسیتوباکتر بومانی* مقاوم به کلیستین از ایران گزارش شده است (۲۱). کلیستین به طور مشخص بر علیه اعضای خانواده انتروباکتریاسه شامل *شریشیا کلی*، انتروباکترها، کلبسیلاها و سیتروباکتر و سالمونلاها و

خارجی باکتری‌ها و به دنبال تغییر در LPS و کاهش در شارژ منفی آن صورت می‌گیرد (۴۲، ۴۳). مکانیسم‌های دیگر مقاومت به بیان بسیار زیاد سیستم‌های پمپ افلوکس مرتبط است. سیستم‌های افلاکس در مقاومت دارویی و بیماری‌زایی در باکتری‌ها دخالت دارند. از پمپ‌های افلوکس می‌توان به *KPnEF* که عضوی از رگولون *CpX* بوده و مسئول سنتز کپسول در کلبسیلا پنومونیه است و نیز *AcrAB* که در شناسایی و انتقال ترکیباتی نظیر داروها، نمک‌های صفرآوی، رنگ‌ها و نیز پروتئین‌های Sap که توسط ژن *ATPase* کد می‌شود، اشاره کرد. گزارش شده است که افزایش مقاومت به گلیستین در خانواده انتروباکتریاسه به دلیل فعال شدن این پمپ‌ها بوده است (۳، ۳۴، ۳۸).

مطالعات مولکولی انجام شده بیانگر این حقیقت است که باکتری‌های گرم منفی مقاوم به گلیستین، همچنین می‌توانند سایر ژن‌های تولیدکننده بتالاکتاماز، کارباپنمازاها و همچنین مقاومت به کینولون‌ها، فلورکینولون‌ها و آمینوگلیکوزیدها را نیز هم‌زمان داشته باشند. مقاومت به گلیستین از طریق مکانیسم پلاسمید نگرانی‌هایی را در خصوص ژن‌های متحرک، (*mcr* Mobilized colistin Resistance) و *XDR* و مرحله بالاتر مقاومت یعنی *PDR* مطرح خواهد کرد. این نوع مقاومت در باکتری‌ها یک تهدید جدی در درمان بیماران مخصوصاً بیماران بستری شده در بیمارستان است. *MCR* عضو خانواده آنزیمی *PETN* می‌باشد که بیان آن منجر به اضافه شدن *PETN* به لیپید A می‌شود (۳۴، ۴۴). *mcr-1* و *mcr-2* روی پلاسمیدهای کونژوگ قرار دارند. گزارش‌ها در مورد این دو ژن نشان دهنده افزایش مقاومت به گلیستین در ایزوله‌های *شرشیا کلسی (E. coli)* و کلبسیلا پنومونیه (*K. pneumoniae*) می‌باشد. نتایج چندین تحقیق دیگر نیز وجود انواع *mcr* مانند *mcr-3*، *mcr-4* و *mcr-5* را در *E. coli* و جدایه‌های سالمونلا گزارش کرده‌اند. بعلاوه در چین، *mcr-7* در کلبسیلا پنومونیه گزارش شده است. شناسایی ژن‌های *mcr* برای اولین بار در جنوب شرقی ایران در جدایه‌های *E.*

شیکگلاها مؤثر است، ولی پروتئوس میرابلیس و سراتیا مارسنس ذاتا به آن مقاوم هستند (۷، ۲۷، ۳۸).

مکانیسم‌های مولکولی مقاومت به گلیستین در انتروباکتریاسه:

گلیستین (پلی میکسین E) جزو پلی پپتیدهای کاتیونیک است و با خاصیت لیوفیلیک زنجیره اسید چرب آن شناخته شده است. پلی میکسین‌ها شامل پنج نوع A-D است که پلی میکسین B و پلی میکسین E (گلیستین) در پیشگیری و اهداف درمانی کاربرد دارند (۳۱). گلیستین به‌طور اختصاصی در درمان پنومونی ناشی از ونتیلاتور بدلیل عفونت با باکتری‌های گرم منفی مقاوم به دارو توصیه می‌شود و به دو صورت کلیستی متات سدیم (Colistimethate Sodium) و گلیستین سولفات (Colistin Sulfate) موجود است (۲۱).

تاکنون هیچ مکانیسم مشخصی برای خاصیت باکتری‌سیدال پلی میکسین‌ها بر علیه مخصوصاً اسینتوباکترها توضیح داده نشده است، با این وجود یک مکانیسم دو مرحله‌ای توصیف شده است: عبور گلیستین از غشاهای خارجی و سپس داخلی و فضای پری پلاسمیک منافذی را ایجاد می‌کند که در نهایت باعث نابودی باکتری می‌شود (۳۳، ۳۴، ۳۸). اتصال گلیستین که دارای شارژ مثبت است به گروه فسفات لیپید A بواسطه برهمکنش نیروهای الکترواستاتیک است. تغییرات در لیپید A و همچنین اضافه کردن ۴ آمینو داکسی ال آرابینوز (*L-Ara4N*) و فسفاتانل آمین (*PETN*) که اساس مقاومت به گلیستین را تشکیل می‌دهند، توسط کروموزوم باکتری کد می‌شوند. این ژن‌ها در تلفیق سیستم‌های تنظیمی دو قسمتی نقش دارند؛ *PmrA/PmrB* و *Phop/PhoQ* که یک تنظیم‌کننده منفی است و با پلاسمید و انتقال افقی ژن‌ها نقش خود را اعمال می‌کند. اپرون *pmrABC* (*BasR*) را به عنوان یک پروتئین تنظیم‌کننده کد می‌کند، *pmrB* (*BasS*) یک سنسور کیناز متصل به غشای سیتوپلاسمی می‌باشد و *pmrC* یک پروتئین غشایی قوی می‌باشد (۴۱-۳۹). به عبارتی بیشترین مقاومت به گلیستین بواسطه تغییراتی است که در غشای

مقاومت کافی است. محققین برای اولین بار بیان (*NDM-1*) δ metallo-enzyme در *E. coli* به عنوان ناقل *mcr-1* گزارش کرده اند. وجود این مسئله به دلیل ظهور پاتوژن های حقیقی PDR از زمینه های قابل توجه بالینی می باشد (۴۹). اخیراً (۵۰) یک ژن مقاومت به کلیستین جدید وابسته به پلاسمید، به عنوان *mcr-2* در *E. coli* گزارش کرده اند. بعداً ژن های *mcr3* تا *mcr8* هم شناسایی شده است (۳، ۵۰، ۵۱). در تحقیقی دیگر، در سال ۲۰۱۰ ژن *mcr-9* نیز که شباهت بسیاری به *mcr-3* دارد در سالمونلا تیفی موریوم MDR گزارش شده است (۵۲). *mcr-9* روی پلاسمید قرار دارد. آنالیز ژنی نشان داد که این ژن توسط پلاسمید *IncHI2* حمل می شود. آنالیز پلی ساکارید *mcr-9* مشابهت عملکردی را با *mcr-1* نشان داد بدین ترتیب که با اضافه کردن گروه فسفو اتانل آمین به لیپید A در نهایت منجر به تغییر لیپوپلی ساکارید می شود (۵۳).

علاوه بر معرفی اثر ژن های متفاوت در مکانیسم های مولکولی مقاومت به کلیستین، به دلیل اثرات جانبی کلیستین، مخصوصاً نفروتوکسیک بودن آن و نیز به دلیل روشن نبودن دوز بهینه آن، اهمیت استفاده از درمان ترکیبی در مقایسه با مونوتراپی مورد تأیید و تأکید قرار گرفته است (۵۴-۵۶). در کشورمان، نتایج تحقیقی مفید بودن درمان ترکیبی با کلیستین را در کاهش مقاومت به ریفامپین در جدایه های *اسیتوباکتریومانی* MDR تأیید کرده است (۵۷، ۵۸).

هدف از این مطالعه مرور و جمع بندی مکانیسم های مقاومت دارویی نسبت به پلی میکسین ها با تأکید بر کلیستین و رویکرد تجویز منطقی آن می باشد.

مواد و روش ها

تحقیق حاضر به صورت مروری روایتی انجام شد. برای این منظور در پایگاه های اطلاعاتی Web Of Science، PubMed، Scopus، Scientific Information Databases، Science Direct و Motors جستجوگر google scholar با استفاده از کلیدواژه های

coli و *K.pneumonia* گزارش شده است (۴۵). بیش از ۱۱ واریانت ژنتیکی از *mcr-1* (*mcr1.1, mcr1.2, mcr1.3, ...*) در کشورهای مختلف شناسایی شده است. برخلاف انتشار وسیع *mcr-1* در جهان، *mcr-2* فرم نادر است و فقط در بلژیک شناسایی شده است (۳۱). پژوهشگران برای اولین بار *Entrobacter hormaechei* با مقاومت همزمان به کلیستین و کارباپنم را که ناقل *NDM-1* *bla* بود را از یک بیمار با عفونت خونی گزارش کردند (۴۶). همچنین پژوهشگران در تحقیقی دیگر اولین مطالعه آنالیز فیلوژنتیک در مورد منشأ و گسترش *mcr-1* را ارائه دادند. در این راستا، اهمیت درک تحرک ژن های مقاومت به آنتی بیوتیک در سازمان ژنومی ارائه شد. داده ها از ۴۵۷ کشور و ۵ قاره جمع آوری و اعلام شد که تمامی عناصر موجود *mcr-1* بواسطه ترانسپوزون ISAp11 در اواسط سال ۲۰۰۰ (۲۰۰۸-۲۰۰۲) کاهش یافته است. در مطالعه مذکور نهایتاً توزیع جهانی ژن های مقاومت به شکل فعلی آن جمع بندی و ارائه شد (۴۷).

از طرفی بر اساس گزارش ها غیر فعال سازی *mgrB* شایع ترین مکانیسم برای مقاومت به کلیستین در کلبسیلا پنومونیه و کلبسیلا اکسی توکا است (۳۸). *mgrB* یک پروتئین کوچک غشایی تشکیل شده از ۴۷ اسید آمینه است که بازخورد منفی را در *phoPQTCs* اعمال می کند. نتایج پژوهشی در کشورمان تغییر *mgrB* را به عنوان مکانیسم عمده مداخله گر در مقاومت به کلیستین در جدایه های بالینی در ایران نشان داد (۴۸). محققین نشان داد که موتاسیون در ژن *mgrB* یک مکانیسم نوظهور همراه با مقاومت نسبت به کلیستین است. علاوه بر این موتاسیون در *mgrB* پایداری بیشتری در مقایسه با موتاسیون در *pmrAB* یا *PhopQ* نشان می دهد (۱۰).

به علاوه ناقل بودن برای *mcr-1* به عنوان یک شاخص مقاومت به نسل سوم سفالوسپورین ها و کارباپنم ها گزارش شده است. در کل وجود ژن *mcr-1* به تنهایی برای ایجاد مقاومت نسبت به کلیستین بدون وجود دیگر مکانیسم های

در تحقیق دیگری که در سال ۲۰۱۶ انجام گرفت، برای اولین بار نکته جدیدی در مورد مقاومت به گلیستین پیدا شد. محققان دریافتند که *اشرشیا کلی* ژنی را حمل می کند که باعث مقاومت به گلیستین می شود. در این زمینه ژن *mcr-1* بعنوان عامل اثربخش نبودن گلیستین در درمان انتروباکتریاسه های مقاوم به کارباپنم اعلام شد (۵۹). دومین گزارش از ژن *mcr-1* در *اشرشیا کلی* در مورد مقاومت نسبت به گلیستین از چین بود (۲۰۱۶). این ژن قبلاً در *اشرشیا کلی* و *کلبسیلا پنومونیه*، به عنوان دو گونه از انتروباکتریاسه، در شماری از خوگ ها و بیماران جنوب چین مشاهده شده بود. نتایج این پژوهش با نتایج Nezhadi و همکاران در ایران که حساسیت به گلیستین را با مهار بیان *mcr-1* توسط PNA (یک آنتی بیوتیک پیتیدی) در *E. coli* *kp81* نشان دادند، همخوانی دارد (۵۹-۶۱). در پژوهش دیگری نقش مقاومت به گلیستین را به اضافه کردن pEtN به لیپید A ارتباط داده اند. ژن *pmrC* کنترل عملکرد فوق را بعهده دارد. در اوپرون *pmrCAB* واجد این ژن موتاسیون های بی معنی دیده می شود (۶۲). Haeili و همکارانش نیز در ایران با روش RT-qPCR مقاومت به گلیستین را با افزایش زیاد بیان *pmrC* مرتبط نشان دادند (۶۳). همان طور که مشاهده می شود نتایج این دو محقق در تائید نقش *pmrC* در مقاومت به گلیستین مطابقت دارند. حساسیت به گلیستین در نتایج مطالعه ای در ایزوله های ۱۸ نمونه *اسیتوباکتر بومانی* و ۲۱ نمونه *پسودوموناس آئرژینوزا* از نمونه های خلط و اندوتراکتال بیماران بستری در بیمارستانی در جنوب ایران نیز گزارش شده است. در این مطالعه محققان افزایش حجم نمونه ها را برای نتیجه گیری بهتری پیشنهاد می کنند (۶۴). نتایج پژوهشی در مورد کلبسیلا *اکسی توکا* جدا شده از کشت خون بیماران دارای مقاومت نسبت به کارباپنم ها و گلیستین، بدون هیچ سابقه ای از مقاومت وسیع دارویی نسبت به باسیل های گرم منفی، نشان داد که مقاومت به گلیستین به ژن *mcr-1* مربوط نبوده بلکه به اینتگرون سکانس شبیه *IS5* در ژن *mcrB* از کلبسیلا *اکسی توکا* مرتبط است (۶۵). در مطالعه ی دیگری

"Colistin", "Antibiotic Resistance", "Iran", "Epidemiology", "negative", "Molecular mechanisms" یا ترکیبی از آن ها در پایگاه های انگلیسی زبان و با کلیدواژه های گلیستین، مقاومت آنتی بیوتیکی، گرم منفی، اپیدمیولوژی، ایران، بتالاکتامازهای با طیف وسیع و مکانیسم های مولکولی در پایگاه های فارسی زبان، از سال ۲۰۰۰ تا سال ۲۰۱۹ جستجو انجام شد. معیارهای ورود به مطالعه شامل کلیه مقالات انگلیسی و فارسی زبانی بود که با واژگان کلیدی بکار رفته استخراج و متن کامل آنها استفاده شد. از کل منابع بازیابی شده (۸۷ منبع)، پس از بررسی ۷۱ منبع متناسب با موضوع به دست آمد. پس از ارزیابی محتوای مقالات، مکانیسم های مقاومت آنتی بیوتیکی به داروی گلیستین مشخص گردید. طیف عملکرد ژن های مقاومت به گلیستین: در بررسی مکانیسم های مولکولی مقاومت نسبت به گلیستین، *PmrA* را به عنوان یک هدف قوی دارویی در ارزیابی اثربخشی گلیستین مورد بررسی قرار داده اند. با حذف این ژن افزایش حساسیت نسبت به گلیستین در ۱۰ مورد از ۱۲ مورد ایزوله های بالینی *اسیتوباکتر بومانی* با مقاومت وسیع دارویی (XDR) نشان داده شد. علاوه بر این در این تحقیق نشان داده شد که هدف گیری *pet N Transferase* ممکن است باعث حفظ فعالیت آنتی بیوتیک های پلی میکسین شود (۷). در پژوهشی دیگری که به منظور بررسی مکانیسم های مولکولی مقاومت نسبت به گلیستین انجام گرفت، موتاسیون در ژن های *amgrB* و *PmrB* و نیز وجود ژن های *mcr-1* و *mcr-2* بررسی شد. افزایش میزان بیان ژن های مسئول تغییرات غشای سلولی به عنوان شایع ترین مکانیسم ایجاد مقاومت معرفی شد. وجود ژن های *mcr-1* و *mcr-2* که از علل مقاومت به گلیستین با واسطه پلاسمید هستند در هیچ یک از سویه ها شناسایی نشد (۵). لذا همان طور که مشاهده می شود مکانیسم مقاومت بواسطه ژن *PmrA* در دو تحقیق فوق همخوانی ندارند و احتمال دخالت سایر ژن ها را مطرح می سازد.

نیز مقاومت به گلیستین را بدون هیچ سابقه‌ای از مصرف قبلی این دارو گزارش کرده‌اند (۲۱). اینتگرون‌ها المنت‌های ژنتیکی متحرک هستند که با قرارگیری در پلاسمیدها، کروموزوم‌ها و ترانسپوزون‌ها، ژن‌های مقاومتی موجود در کاست‌های ژنی را حمل و جابجا می‌کنند. آنزیم *VIM-2* از آنزیم‌های بتالاکتاماز است که در ساختار اینتگرون‌های کلاس I و III از مکان‌های مختلف جغرافیایی جدا شده است (۶۶).

در پژوهشی که برای بررسی مکانیسم‌های مقاومت به گلیستین انجام گرفت، علاوه بر نقش ژن‌های کروموزومی و پلاسمیدی، نقش سایر عوامل از جمله برهم‌کنش عوامل میزبانی، باکتری‌ها و عوامل محیطی را نیز تأیید و پیشنهاد کردند که به منظور شناسایی سریع موتاسیون‌های مسئول ایجاد مقاومت دارویی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های جدید، روش توالی‌یابی با بازدهی بالا (High-throughput sequencing technology) با استفاده از الگوریتم‌های بیوانفورماتیک و کامپیوتری در مجموعه کامل ژنوم‌های باکتریایی اضافه شود (۲). در تحقیق دیگری نیز استفاده از ابزارهای پیشرفته محاسباتی برای بررسی داده‌های مربوط به توالی‌های ژنتیکی را به عنوان بخشی از ابزارهای روزمره در نظارت بر بیماری‌های عفونی مورد تأکید قرار داده است (۶۷، ۶۸، ۶۸).

درمان تک دارویی با گلیستین و مقاومت به دارو:

از آنجا که مونوتراپی با گلیستین از جمله مکانیسم‌های مقاومت به این دارو معرفی شده؛ بنابراین به منظور بررسی اثربخشی این دارو، در استفاده از ترکیب دارویی آن مخصوصاً با کارباپنم‌ها نیز پژوهش‌هایی صورت گرفته است که در زیر به بعضی از آنها اشاره می‌شود. در مطالعه‌ای نقش مینوسیکلین به تنهایی و در ترکیب با گلیستین برای درمان عفونت‌های بیمارستانی/اسیتوباکتر بومانی MDR، XDR مورد بررسی قرار گرفت و نشان داده شد که ۳۲/۲٪ از بیماران در دوره درمان فقط مینوسیکلین و ۹۱/۷٪ بیماران مینوسیکلین را در ترکیب با گلیستین یا کارباپنم‌ها دریافت کرده بودند. در این مطالعه ترکیب مینوسیکلین با گلیستین را

در درمان اسیتوباکترهای دارای مقاومت چندگانه دارویی (MDR) موثر نشان دادند (۴، ۶۹).

پژوهش‌های مشابهی نیز وجود دارند که نقش درمان ترکیبی با گلیستین را موثر نشان داده‌اند. به عنوان مثال نقش پلی میکسین‌ها در درمان عفونت‌های ناشی از باکتری کلبسیلای NDM تأیید شده است. زمانی که گلیستین در ترکیب با ریفامپین یا تیگسیکلین استفاده شود، اثر درمانی فوق‌بیشتر مشاهده می‌شود. همچنین استفاده از آویباکتام در ترکیب با سفنازیدیم یک درمان مؤثر بر علیه عفونت‌های شدید است (۷۰). همین نتایج با سولباکتام، مخصوصاً در ترکیب منونیم و گلیستین دیده می‌شود. در تحقیق دیگری نیز ترکیب دارویی گلیستین با ریفامایسین/کارباپنم به عنوان مهم‌ترین استراتژی ضد میکروبی بر علیه اسیتوباکتر بومانی اعلام شده است (۳۲). در مطالعه‌ی دیگری اثر بخشی گلیستین آئروسلیزه شده در درمان پنومونی وابسته به ونتیلاتور (VAP) Ventilator Associated Pneumonia ارزیابی شده و مفید بودن آن مورد تأیید قرار گرفته است (۷۱).

با توجه به بررسی پژوهش‌های انجام شده در این تحقیق، شایع‌ترین مکانیسم‌های مولکولی مقاومت به گلیستین، علاوه بر ژن *mcr-1-like mcr* و افزایش بیان ژن *pmrC* شامل تغییرات ایجاد شده در غشا خارجی باکتری‌های گرم منفی و نیز موتاسیون در ژن *mgrB* می‌باشند. درمان ترکیبی با گلیستین نیز یک استراتژی مؤثر درمانی در مبارزه با عفونت‌های جدی و تهدیدکننده حیات می‌باشد.

نتیجه‌گیری

با توجه به اهمیتی که گلیستین به عنوان آخرین امید درمانی در درمان عفونت‌های ناشی از باکتری‌های گرم منفی که عفونت‌های جدی و تهدیدکننده حیات هستند، دارند و نیز به لحاظ نقش مکانیسم‌های مولکولی مقاومت به گلیستین و گسترش سایر مکانیسم‌های مقاومت در سراسر جهان، به تجویز منطقی گلیستین و استفاده از درمان ترکیبی آن همراه با آنتی‌بیوتیک‌هایی نظیر تیگسیکلین، ریفامپین، سولباکتام (که نقش مؤثری در اثربخشی درمان داشته است) توصیه

نویسنده مقاله اظهار می دارد که انتشار این مقاله هیچگونه تضاد یا تعارض منافی با افراد یا دستگاه های خاصی ندارد. بدین وسیله از زحمات خانم نادیا شرفکنندی دانشجوی ارشد ایمنی شناسی در قسمت ویراستاری مقاله تشکر و قدردانی می شود.

می شود. همان طور که نقش موتاسیون در ایجاد مقاومت برجسته است، بنابراین به منظور درمان درست و به موقع عفونتهای باکتریایی بایستی در آینده تشخیص سریع موتاسیون های عامل مقاومت دارویی با روش های مناسب و نیز توجه به برهم کنش های باکتری، میزبان و عوامل محیطی مورد توجه قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

منابع

- 1.Pormohammad A, Pouriran R, Azimi H, Goudarzi M. Prevalence of integron classes in Gram-negative clinical isolated bacteria in Iran: a systematic review and meta-analysis. IJBMS. 2019;22(2):118.
- 2.Correa-Martínez CL, Idelevich EA, Sparbier K, Kostrzewa M, Becker K. Rapid detection of extended-spectrum β -lactamases (ESBL) and AmpC β -lactamases in Enterobacterales: development of a screening panel using the MALDI-TOF MS-based direct-on-target microdroplet growth assay. Front Microbiol. 2019;24;10:13.
- 3.Aruhomukama D, Sserwadda I, Mboowa G. Investigating colistin drug resistance: the role of high-throughput sequencing and bioinformatics. F1000Res. 2019;8:150.
- 4.Shaikh S, Fatima J, Shakil S, Rizvi SMD, Kamal MA. Antibiotic resistance and extended spectrum beta-lactamases: Types, epidemiology and treatment. Saudi J Biol Sci. 2015;22(1):90-101.
- 5.Borsa B, Demirci M, Gungordu-Dalar Z, Karabiyik G, Aygun G, Kucukbasmaci O. Molecular Mechanisms of Colistin Resistance Among *Klebsiella Pneumoniae* Strains. Clin Lab. 2019;65(7).
- 6.Leylabadlo HE, Poulrak T, Aghazadeh M, Asgharzadeh M, Kafil HS. Extended-spectrum beta-lactamase producing gram negative bacteria In Iran: A review. AJID. 2017;11(2):39-53.
- 7.Trebosc V, Gartenmann S, Tötzl M, Lucchini V, Schellhorn B, Pieren M, et al. Dissecting Colistin Resistance Mechanisms in Extensively Drug-Resistant *Acinetobacter baumannii* Clinical Isolates. MBio. 2019;10(4):e01083-19.
- 8.Lahoorpour F, Delpisheh A, Afkhamzadeh A. Risk factors for acquisition of ventilator-associated pneumonia in adult intensive care units. PaK J Med Sci. 2013;29(5):1105.
- 9.Wu D, Wu C, Zhang S, Zhong Y. Risk factors of ventilator-associated pneumonia in critically III patients. Front. Pharmacol. 2019 , 9;10:482.
- 10.Olaitan AO, Diene SM, Kempf M, Berrazeg M, Bakour S, Gupta SK, et al. Worldwide emergence of colistin resistance in *Klebsiella pneumoniae* from healthy humans and patients in Lao PDR, Thailand, Israel, Nigeria and France owing to inactivation of the PhoP/PhoQ regulator mgrB: an epidemiological and molecular study. Int J Antimicrob Agents. 2014;44(6):500-7.
- 11.Prakobsrikul N, Malathum K, Santanirand P, Chumnumwat S, Piebpien P, Montakantikul P. Correlation between antimicrobial consumption and the prevalence of carbapenem-resistant *Escherichia coli* and carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* at a university hospital in Thailand. J Clin Pharm. 2019;44(2):292-9.
- 12.Ghasemian A, Mobarez AM, Peerayeh SN, Abadi ATB, Khodaparast S, Nojoomi F. Report of plasmid-mediated colistin resistance in *Klebsiella oxytoca* from Iran. Clin Microbiol Rev. 2018;29(2):59-63.
- 13.Jafari Z, Harati AA, Haeili M, Kardan-Yamchi J, Jafari S, Jabalameli F, et al. Molecular epidemiology and drug resistance pattern of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates from Iran. MDR. 2019;25(3):336-43.
- 14.Lu P-L, Liu Y-C, Toh H-S, Lee Y-L, Liu Y-M, Ho C-M, et al. Epidemiology and antimicrobial susceptibility profiles of Gram-negative bacteria causing urinary tract infections in the Asia-Pacific

- region: 2009–2010 results from the Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART). *Int J Antimicrob Agents*. 2012;40:S37-S43.
15. Traub WH, Schwarze I, Bauer D. Nosocomial outbreak of cross-infection due to multiple-antibiotic-resistant *Klebsiella pneumoniae*: Characterization of the strain and antibiotic susceptibility studies. *CTX*. 2000;46(1):1-14.
16. Kim Y, Bae IK, Lee H, Jeong SH, Yong D, Lee K. In vivo emergence of colistin resistance in *Acinetobacter baumannii* clinical isolates of sequence type 357 during colistin treatment. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis*. 2014;79(3):362-6.
17. Bahador A, Raoofian R, Pourakbari B, Taheri M, Hashemizadeh Z, Hashemi FB. Genotypic and antimicrobial susceptibility of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*: analysis of ISAb elements and blaOXA-23-like genes including a new variant. *Front. Microbiol*. 2015;6:1249.
18. Ardehali SH, Azimi T, Fallah F, Owrang M, Aghamohammadi N, Azimi L. Role of efflux pumps in reduced susceptibility to tigecycline in *Acinetobacter baumannii*. *New Microbes New Infect*. 2019;30:100547.
19. Yoon E-J, Balloy V, Fiette L, Chignard M, Courvalin P, Grillot-Courvalin C. Contribution of the Ade resistance-nodulation-cell division-type efflux pumps to fitness and pathogenesis of *Acinetobacter baumannii*. *MBio*. 2016;7(3):e00697-16.
20. Li J, Rayner CR, Nation RL, Owen RJ, Spelman D, Tan KE, et al. Heteroresistance to colistin in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob. Agents Chemother*. 2006;50(9):2946-50.
21. Ahmed SS, Alp E, Hopman J, Voss A. Global epidemiology on colistin resistant *Acinetobacter baumannii*. *J Infect Dis Ther*. 2016;4(4):1-5.
22. Peleg AY, Seifert H, Paterson DL. *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen. *Clin Microbiol Rev*. 2008;21(3):538-82.
23. Ezadi F, Jamali A, Heidari A, Javid N, Ardebili A. Heteroresistance to colistin in oxacillinase-producing carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* clinical isolates from Gorgan, Northern Iran. *JGAR*. 2020;21:380-385.
24. Dortet L, Potron A, Bonnin RA, Plesiat P, Naas T, Filloux A, et al. Rapid detection of colistin resistance in *Acinetobacter baumannii* using MALDI-TOF-based lipidomics on intact bacteria. *Sci Rep*. 2018;8(1):1-5.
25. Falagas ME, Kasiakou SK, Saravolatz LD. Colistin: the revival of polymyxins for the management of multidrug-resistant gram-negative bacterial infections. *Clin Infect Dis*. 2005;40(9):1333-41.
26. Kalantar-Neyestanaki D, Emaneini M, Jabalameli F, Taherikalani M, Mirsalehian A. IS_{Ppu22}, a novel insertion sequence in the oprD porin gene of a carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolate from a burn patient in Tehran, Iran. *IJM*. 2015;7(5):247.
27. Poirel L, Nordmann P. Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*: mechanisms and epidemiology. *Clin Microbiol Infect*. 2006;12(9):826-36.
28. Quale J, Bratu S, Landman D, Heddurshetti R. Molecular epidemiology and mechanisms of carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii* endemic in New York City. *Clin Infect Dis*. 2003;37(2):214-20.
29. Sheikh AF, Shahin M, Shokoozadeh L, Halaji M, Shahcheraghi F, Ghanbari F. Molecular epidemiology of colistin-resistant *Pseudomonas aeruginosa* producing NDM-1 from hospitalized patients in Iran. *IJBMS*. 2019;22(1):38.
30. Fazeli H, Norouzi-Barough M, Ahadi A, Shokri D, Solgi H. Detection of New Delhi Metallo-Beta-Lactamase-1 (NDM-1) in carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolated from a university hospital in Iran. *Hippokratia*. 2015;19(3):205.
31. Sun J, Zhang H, Liu Y-H, Feng Y. Towards understanding MCR-like colistin resistance. *trends microbiol*. 2018;26(9):794-808.
32. Cai Y, Chai D, Wang R, Liang B, Bai N. Colistin resistance of *Acinetobacter baumannii*: clinical reports, mechanisms and antimicrobial strategies. *J Antimicrob Chemother*. 2012;67(7):1607-15.
33. Garcia-Penuela E, Aznar E, Alarcon T, Lopez-Brea M. Susceptibility pattern of *Acinetobacter baumannii* clinical isolates in Madrid vs. Hong Kong. *Revista espanola de quimioterapia: Rev Esp Quimioter*. 2006;19(1):45-50.

34. Aghapour Z, Gholizadeh P, Ganbarov K, Bialvaei AZ, Mahmood SS, Tanomand A, et al. Molecular mechanisms related to colistin resistance in Enterobacteriaceae. *Infect Drug Resist.* 2019;12:965.
35. Malchione MD, Torres LM, Hartley DM, Koch M, Goodman JL. Carbapenem and colistin resistance in Enterobacteriaceae in Southeast Asia: Review and mapping of emerging and overlapping challenges. *Int J Antimicrob Agents.* 2019 ;54(4):381-399.
36. Mohammadpour B, Rouhi S, Moradi M, Ramazanzadeh R, Saniyi E, Zandi S, et al. Prevalence of Metallo- β -Lactamases in *Acinetobacter baumannii* in Iran: A Review and Meta-Analysis. *Infect Disord. Drug Targets.* 2019;19(4):350-61.
37. Sepahvand V, Davarpanah MA, Hejazi SH. Epidemiology of colistin-resistant *Acinetobacter baumannii* in Shiraz, Iran. *J Appl Environ Biol Sci.* 2015;5(5):45-8.
38. Bialvaei AZ, Samadi Kafil H. Colistin, mechanisms and prevalence of resistance. *Curr Med Res Opin.* 2015;31(4):707-21.
39. Adams MD, Nickel GC, Bajaksouzian S, Lavender H, Murthy AR, Jacobs MR, et al. Resistance to colistin in *Acinetobacter baumannii* associated with mutations in the PmrAB two-component system. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2009;53(9):3628-34.
40. Gao R, Hu Y, Li Z, Sun J, Wang Q, Lin J, et al. Dissemination and mechanism for the MCR-1 colistin resistance. *PLoS pathogens.* 2016;12(11).
41. Moffatt JH, Harper M, Harrison P, Hale JD, Vinogradov E, Seemann T, et al. Colistin resistance in *Acinetobacter baumannii* is mediated by complete loss of lipopolysaccharide production. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2010;54(12):4971-7.
42. Bengoechea JA, Skurnik M. Temperature-regulated efflux pump/potassium antiporter system mediates resistance to cationic antimicrobial peptides in *Yersinia*. *Mol Microbiol.* 2000;37(1):67-80.
43. Falagas ME, Rafailidis PI, Matthaiou DK. Resistance to polymyxins: mechanisms, frequency and treatment options. *Drug Resist Updat.* 2010;13(4-5):132-8.
44. Aquilini E, Merino S, Knirel YA, Regué M, Tomás JM. Functional identification of *Proteus mirabilis* eptC gene encoding a core lipopolysaccharide phosphoethanolamine transferase. *Int J Mol Sci.* 2014;15(4):6689-702.
45. Moosavian M, Emam N. The first report of emerging mobilized colistin-resistance (mcr) genes and ERIC-PCR typing in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates in southwest Iran. *Infect Drug Resist.* 2019;12:1001.
46. Yuan Y, Li Y, Wang G, Li C, Xiang L, She J, et al. Coproduction Of MCR-9 And NDM-1 By Colistin-Resistant *Enterobacter hormaechei* Isolated From Bloodstream Infection. *Infect Drug Resist.* 2019;12:2979.
47. Wang R, van Dorp L, Shaw LP, Bradley P, Wang Q, Wang X, et al. The global distribution and spread of the mobilized colistin resistance gene mcr-1. *Nat. Commun.* 2018;9(1):1-9.
48. Haeili M, Javani A, Moradi J, Jafari Z, Feizabadi MM, Babaei E. MgrB alterations mediate colistin resistance in *Klebsiella pneumoniae* isolates from Iran. *Front. Microbiol.* 2017;8:2470.
49. Xu L, Wang P, Cheng J, Qin S, Xie W. Characterization of a novel blaNDM-5-harboring IncFII plasmid and an mcr-1-bearing IncI2 plasmid in a single *Escherichia coli* ST167 clinical isolate. *Infect Drug Resist.* 2019;12:511.
50. Malhotra-Kumar S, Xavier BB, Das AJ, Lammens C, Butaye P, Goossens H. Colistin resistance gene mcr-1 harboured on a multidrug resistant plasmid. *The Lancet infect dis.* 2016;16(3):283-4.
51. Capone A, Giannella M, Fortini D, Giordano A, Meledandri M, Ballardini M, et al. High rate of colistin resistance among patients with carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infection accounts for an excess of mortality. *Clin. Microbiol. Infect.* 2013;19(1):E23-E30.
52. Carroll LM, Gaballa A, Guldemann C, Sullivan G, Henderson LO, Wiedmann M. Identification of novel mobilized colistin resistance gene mcr-9 in a multidrug-resistant, colistin-susceptible *Salmonella enterica* serotype *Typhimurium* isolate. *MBio.* 2019;10(3):e00853-19.
53. Kieffer N, Royer G, Decousser J-W, Bourrel A-S, Palmieri M, De La Rosa J-MO, et al. Erratum for Kieffer et al. "mcr-9, an Inducible Gene Encoding an Acquired Phosphoethanolamine Transferase in *Escherichia coli*, and Its Origin". *Antimicrob. Agents Chemother.* 2019;63(11).
54. Rodríguez-Hernández M-J, Pachón J, Pichardo C, Cuberos L, Ibáñez-Martínez J, García-Curiel A, et al. Imipenem, doxycycline and amikacin in monotherapy and in combination in *Acinetobacter baumannii* experimental pneumonia. *J Antimicrob Chemother.* 2000;45(4):493-501.

55. Saballs M, Pujol M, Tubau F, Pena C, Montero A, Domínguez MA, et al. Rifampicin/imipenem combination in the treatment of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* infections. *J Antimicrob Chemother.* 2006;58(3):697-700.
56. Sobieszczyk ME, Furuya EY, Hay CM, Pancholi P, Della-Latta P, Hammer SM, et al. Combination therapy with polymyxin B for the treatment of multidrug-resistant Gram-negative respiratory tract infections. *J Antimicrob Chemother.* 2004;54(2):566-9.
57. Mohammadi M, Khayat H, Sayehmiri K, Soroush S, Sayehmiri F, Delfani S, et al. Synergistic effect of colistin and rifampin against multidrug resistant *Acinetobacter baumannii*: a systematic review and meta-analysis. *Open Microbiol J.* 2017;11:63.
58. Pourhajbagher M, Hashemi FB, Pourakbari B, Aziemzadeh M, Bahador A. Antimicrobial resistance of *Acinetobacter baumannii* to imipenem in Iran: a systematic review and meta-analysis. *Open Microbiol J.* 2016;10:32.
59. Abbasi J. Infectious disease expert sees threat from colistin-resistant superbug. *Jama.* 2016;316(8):806-7.
60. Liu Y-Y, Wang Y, Walsh TR, Yi L-X, Zhang R, Spencer J, et al. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. *Lancet Infect Dis.* 2016;16(2):161-8.
61. Nezhadi J, Narenji H, Barhaghi MHS, Rezaee MA, Ghotaslou R, Pirzadeh T, et al. Peptide nucleic acid-mediated re-sensitization of colistin resistance *Escherichia coli* KP81 harboring mcr-1 plasmid. *Microb Pathog.* 2019;135:103646.
62. Lucas DD, Crane B, Wright A, Han M-L, Moffatt J, Bulach D, et al. Emergence of high-level colistin resistance in an *Acinetobacter baumannii* clinical isolate mediated by inactivation of the global regulator H-NS. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2018;62(7):e02442-17.
63. Haeili M, Kafshdouz M, Feizabadi MM. Molecular mechanisms of colistin resistance among pandrug-resistant isolates of *Acinetobacter baumannii* with high case-fatality rate in intensive care unit patients. *MDR.* 2018;24(9):1271-6.
64. Malekzadegan Y, Abdi A, Heidari H, Moradi M, Rastegar E, Ebrahim-Saraie HS. In vitro activities of colistin, imipenem and ceftazidime against drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* isolates in the south of Iran. *BMC research notes.* 2019;12(1):301.
65. Simon M, Melzl H, Hiergeist A, Richert K, Falgenhauer L, Pfeifer Y, et al. Colistin-and carbapenem-resistant *Klebsiella oxytoca* harboring blaVIM-2 and an insertion in the mgrB gene isolated from blood culture. *Int J Med Microbiol Suppl.* 2017;307(2):113-5.
66. Zeighami H, Haghi F, Hajiahmadi F. Integrons and their role in antibiotic resistance. *DX.* 2014;5(22):61-71.
67. Kwong JC, McCallum N, Sintchenko V, Howden BP. Whole genome sequencing in clinical and public health microbiology. *Pathology.* 2015;47(3):199-210.
68. Rossen JW, Friedrich A, Moran-Gilad J. Practical issues in implementing whole-genome-sequencing in routine diagnostic microbiology. *Clin Microbiol Infect.* 2018;24(4):355-60.
69. Fragkou PC, Poulakou G, Blizou A, Blizou M, Rapti V, Karageorgopoulos DE, et al. The Role of Minocycline in the Treatment of Nosocomial Infections Caused by Multidrug, Extensively Drug and Pandrug Resistant *Acinetobacter baumannii*: A Systematic Review of Clinical Evidence. *Microorganisms.* 2019;7(6):159.
70. Plusa T. Pathogenetic conditions of treatment of infections caused by antibiotic-resistant strains *Klebsiella pneumoniae*. *Poliski merkuriusz lekarski: Pol Merkur Lekarski.* 2019;46(276):251-6.
71. Abdellatif S, Trifi A, Daly F, Mahjoub K, Nasri R, Lakhal SB. Efficacy and toxicity of aerosolised colistin in ventilator-associated pneumonia: a prospective, randomised trial. *Ann Intensive Care.* 2016;6(1):26.