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

Fariba Lahoorpour[1]

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: lahoorpour.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 Lahoorpour. 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

کُلیستین: 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: ۳۳۶۶۴۶۵۸-۰۸۷ ، پست الکترونیک:lahoorpour.f@muk.ac.ir، کد ارکید: ۰۰۰۰-۰۰۰۳-۳۶۶۹-۰۳۹۲

چکیده

زمینه و هدف: در طی دهای 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 کُلیستین، به عنوان آخرین راه حل درمانی، نیز در سطح جهانی گزارش شده است. هدف از این مطالعه ارزیابی مکانیسم‌های مقاومت به کُلیستین و رویکردهای منطقی برای استفاده از کُلیستین است.

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

یافته ها: مکانیسم‌های مولکولی مقاومت به کُلیستین شامل *mcr-1* ، ژن های *mcr-like* ، افزایش بیان *pmrC*، تغییرات غشای خارجی در باکتری های گرم منفی و جهش در *mgrB* بود. درمان ترکیبی توسط کُلیستین به همراه سایرآنتی بیوتیک ها یک استراتژی درمانی موثر در عفونت های تهدید کننده زندگی بود.

نتیجه گیری : *mcr-1* و *pet-1* ترانسفراز ازشایع ترین مکانیسم های مولکولی مقاومت به کُلیستین بودند و داروهای ترکیبی با کُلیستین یک رژیم قابل توجه در برابر عفونت های شدید بود.

کلمات کلیدی: کُلیستین، باکتری‌های گرم منفی، مکانیسم‌های مولکولی، مقاومت آنتی بیوتیکی، درمان ترکیبی

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

مقدمه

کُلیستین 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 مقاومت است که باعث می‌شود این باکتری‌ها با 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 کُلیستین، آنتی بیوتیکی که آخرین خط درمان برعلیه گستره مقاومت های آنتی بیوتیکی است، گزارش شده است. مقاومت آنتی بیوتیکی 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 سفالوسپورین های با طیف وسیع، پنی سیلین ها، منوباکتام ها و بعضی از کاربا‌پنم ها مخصوصاً کاربا‌پنم های KPC می‌باشند(۴-۲). امروزه بیش از ۶۰۰ نوع ESBL شناخته شده است که بیشتر آن‌ها متعلق به آنزیم های هیدرولیزکننده Cefotaxime شامل Sulfhydryl Variable (SHV) ، Cefotaximase (CTX) و Temoneira Munich (TEM) است (۱).

مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی وسیع نسبت به آنتی بیوتیک های خط اول و دوم درمان نظیر مقاومت به سفالوسپورین ها در عفونت‌های بیمارستانی ناشی از اسینتوباکتر بومانی و پسودوموناس آئروژینوزا (باکتری های 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 آنتی بیوتیکی باعث بیماری‌های مختلفی مانند عفونت دستگاه ادراری، سپتی سمی، پنومونی و عفونت های داخل شکمی در بیماران بستری در بخش‌های مختلف بیمارستان می‌شود (۷-۵). پنومونی های وابسته به ونتیلاتور (VAP) Ventilator Associated Pneumonia از مهم‌ترین علل مرگ و میر در بخش‌های مراقبت ویژه و از عوامل خطر مرتبط مصرف بی رویه آنتی بیوتیک است(۸, ۹).

ظهور کلبسیلا پنومونیه مقاوم به کُلیستین (Colistin Resistance- *Klebsiella Pneumonia*, CR-KP)نیز یک مشکل بهداشت عمومی در دنیا است(۱۰, ۱۱). ایجاد مقاومت بالادر برابر کاربا‌پنم ها و کُلیستین 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 موتاسیون های کروموزومی در *کلبسیلا پنومونیه* ، سبب بروز مقاومت به فلورکینولون ها می‌شود. در این موارد ادامه درمان با کاربا‌پنم هایی مانند ایمی پنم و مروپنم، به‌عنوان آخرین داروهای خط درمان انجام می‌شود. اهمیت مقاومت به کُلیستین در *کلبسیلا پنومونیه* (CR-KP) با پژوهشی در کشورمان مورد تائید قرار گرفته است(۱۳). در سال‌های اخیر مقاومت به کاربا‌پنم ها درمان را به سوی آخرین امیدهای دارویی یعنی کُلیستین سوق داده است(۴, ۱۴, ۱۵).

اسینتوباکتر کوکوباسیل گرم منفی غیر تخمیرکننده ای است که مهم‌ترین گونه آن بومانی، عامل بیماری‌های مهمی مانند پنومونی، سپتی سمی، 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 قرارگرفته‌اند نیز دیده می شود(۴, ۵).

مقاومت آنتی‌بیوتیکی در اسینتو باکترها بواسطه مکانیسم های اکتسابی نظیرتغییرآنزیمی، موتاسیون در ژن هدف، تغییر نفوذپذیری غشا خارجی و افزایش بیان ایفلاکس پمپ‌ها است(۴, ۱۶) . ارتباط بین مقاومت به کُلیستین و بیماریزایی در جدایه های *اسینتوباکتر بومانی* بطور بارزی مشخص شده است(۱۷).

سیستم‌های ایفلاکس نوع RND (Resistance-nodulation division) کروموزومی نقش مهمی در شروع و پیشرفت مقاومت آنتی بیوتیکی، بیماری‌زایی باکتری‌ها و تشکیل بیوفیلم در باکتری‌های گرم منفی مخصوصاً اسینتوباکتر بومانی دارد. در تحقیقی مقاومت *اسینتوباکتر بومانی* به کُلیستین را با پمپ‌های 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* یا *AdeIJK*، به عنوان سه پمپ RND اصلی، به مقاومت آنتی بیوتیکی در ایزوله های بالینی *A. baumanni* کمک می کند(۲۱, ۲۲)

علاوه بر مکانیسم‌های مقاومت دارویی یادشده، ظهور جدایه های اسینتوباکتر بومانی مقاوم بواسطه مکانیسم های مختلف دیگر (Heteroresistance) هشداردهنده است. نتیجه یک پژوهش در شمال کشورمان (گرگان) نشان داد که اکثر جدایه های *اسینتوباکتر بومانی* مقاوم به کاباپنم تولید کننده اگزاسیلیناز نیز بودند(۲۳). درنهایت درمان سویه های واجد مقاومت چند دارویی (MDR) و مقاومت های دارویی وسیع (XDR) درمان را به سوی استفاده از آخرین امید درمانی یعنی کُلیستین کشانده است. مقاومت به کُلیستین در اسینتوباکتر بومانی با اضافه کردن فسفو اتانل آمین به لیپید A توسط محصول کد شده توسط ژن pmrC ایجاد می‌شود(۲۴). فنوتیپ مقاومت به کُلیستین که هنوز هم به‌خوبی شناخته نشده است، به نام‌های دیگری نیز نظیر هترو و مقاومت انطباقی در اسینتوباکتر بومانی گزارش شده است(۲۵). برای اولین بار در مطالعه ای مقاومت به کُلیستین تحت عنوان مقاومت انطباقی گزارش شد. یافته های تحقیق فوق هشداری جدی برای مکانیسم مقاومت *اسینتوباکتر بومانی* نسبت به کُلیستین 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 کُلیستین مانند متان سولفونات (methane sulfonate) ایجاد شده باشد. انستیتوی استاندارد های بالینی و CLSI مقادیر MIC≤2µg/ml را به‌عنوان دوز حساس و مقادیر MIC≥4µg/ml را به‌عنوان دوز مقاوم کُلیستین اعلام کرده است (۲۰)

سومین باکتری گرم منفی بیماری‌زای اصلی بیمارستانی پسودوموناس ها هستند که مکانیسم‌های متفاوتی را برای ایجاد MDRو XDR به‌کار می‌برند. از جمله این مکانیسم ها ESBL، کاربانمازها و 16srRNAmethylase هستندکه باعث ایجاد مقاومت در تمامی گونه های بالینی که با آمینوگلیکوزیدها درمان می‌شوند. یکی از مهم‌ترین مکانیسم‌های ایجاد مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به کاربانم 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* مهم‌ترین مکانیسم های مقاومت ذاتی در برابرکاربانم هستند. از بین رفتن پورین *OprD* درغشا بیرونی باعث مسدود شدن ورودکاربانم ها به‌ویژه ایمی پنم به داخل سلول می‌شود(۲۶).

با ظهور و گسترش مقاومت باکتری‌های گرم منفی بیماری‌زا نسبت به پنی‌سیلین‌ها و سفالوسپورین ها کاربانم ها برای درمان استفاده شدند. به دلیل گسترش جهانی مقاومت به این داروها نیز، آخرین امیدهای خط درمان یعنی پلی میکسین ها مخصوصاً کُلیستین مطرح و مورد استفاده قرار گرفتند. هرچند که گزارش های متعددی ازمقاومت 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 کُلیستین در *پسودوموناس آئروژینوزای* مقاوم به کاربانماز(CRPA) (Carbapenem Resistance Pseudomonas Aeroginosa) که ناقل New Delhi Metalobetalactamase (NDM-1) است ،مورد تأکید قرار گرفته است(۲۹). NDM-1 آنزیمی است که

باعث مقاومت باکتری‌ها به گستره وسیعی از آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام شامل کاربا‌پنم ها 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 دارو های بتالاکتام به جز آزترونام را غیر فعال می کند(۳۰).

اپیدمیولوژی:

کُلیستین از پرمصرف ترین آنتی‌بیوتیک‌های خانواده پلی میکسین هاست که بیش از ۵۰ سال است که وارد بازار دارویی شده است. این دارو جزو پلی پپتیدهای کاتیونیک است که از *باسیلوس کلستینوس* 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 آنتی بیوتیک در سراسر جهان گزارش شده است(۷, ۲۷, ۳۱). سازمان بهداشت جهانی در سال ۲۰۱۴اعلام کرد که اطلاعات در مورد مقاومت به خاصیت ضد میکروبی کُلیستین به دلیل مشکل بودن دسترسی به داده ها و ظرفیت های پایین آزمایشگاهی و آماری در افریقا محدود است. هرچند که الجزایر، تونس و مصر مقاومت به کُلیستین را در قسمت جنوب افریقا گزارش کرده اند. بالاترین میزان مقاومت به کُلیستین در آسیا، سپس اروپا و با کمترین شیوع در شمال و جنوب امریکا گزارش شده است. تعداد ۱۰ گزارش از اروپا با شیوع کمتر از 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 کُلیستین کمتر از ۱۲٪ بود. کشور کره بالاترین میزان مقاومت یعنی ۳۰.۶ ٪ را گزارش کرده است(۳۲, ۳۳). اولین گزارش های میزان شیوع مقاومت به کُلیستین از کشور هندوستان گزارش شد. درحال حاضر این مقاومت از کشورهای مدیترانه شرقی و آسیای جنوب شرقی (کره و سنگاپور) گزارش می شود که نشان دهنده امکان گسترش مقاومت به کُلیستین و ناکارامدی این دارو به عنوان یکی از آخرین گزینه های درمانی می باشد(۷, ۲۷, ۳۴). مقاومت به کُلیستین 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 کُلیستین وجود دارد که می‌تواند به دلیل مهاجرت افراد از کشورهای در حال توسعه به اروپا و انتقال پدیده مقاومت به کُلیستین باشد(۱, ۲۱). در تحقیقی که در جنوب شرق آسیا بر روی مقاومت به کُلیستین و کاربا‌پنم ها انجام شد، تنها ۳ کشور از ۱۳ کشور جهان داده‌های مربوط به داروهای فوق را به سازمان جهانی بهداشت ارائه کرده اند(۳۵).

در مطالعه ای که در شمال شرق ایران انجام گرفت، تمامی ۳۹ نمونه *اسینتوباکتر بومانی* جداشده از بیماران بستری شده با مقاومت چند گانه دارویی (MDRAB) *Multi Drug Resistance A.Baumannii* به کُلیستین حساس بودند(۳۶). درتحقیق دیگری از کشورمان، از کل ۱۰۰نمونه CR-KP، افزایش ۵۰ درصدی از مقاومت به کُلیستین در جدایه ها انجام گرفته از نمونه های بالینی مشاهده شد. این وضعیت با توجه به شیوع بالای کاربا‌پنمازهای *blaOXA* و *blaOXA-48* و مقاومت به کُلیستین تهدیدهای نگران کننده ای هستند و ضرورت اقدام فوری برای پیشگیری از گسترش ایزوله های مقاوم *کلبسیلا پنومونیه* در برابر کاربا‌پنم- کُلیستین را در ایران مورد تأکید قرار داده است(۱۳).

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

شیگلاها مؤثر است، ولی *پروتئوس میرابلیس و سراتیا مارسسنس* ذاتا به آن مقاوم هستند(۷, ۲۷, ۳۸).

مکانیسم های مولکولی مقاومت به کُلیستین در انتروباکتریاسه:

کُلیستین (پلی میکسین E) جزو پلی پپتیدهای کاتیونیک است و با خاصیت لیپوفیلیک زنجیره اسید چرب آن شناخته شده است. پلی میکسین ها شامل پنج نوع A-D است که پلی میکسین B و پلی میکسین E (کُلیستین) در پیشگیری و اهداف درمانی کاربرد دارند(۳۱). کُلیستین 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 کُلیستین سولفات (Colistin Sulfate)موجود است(۲۱) .

تاکنون هیچ مکانیسم مشخصی برای خاصیت باکتریسیدال پلی میکسین هابر علیه مخصوصاً اسینتوباکترها توضیح داده نشده است، با این وجود یک مکانیسم دومرحله ای توصیف شده است: عبور کُلیستین از غشاهای خارجی و سپس داخلی و فضای پری پلاسمیک منافذی را ایجاد می کند که درنهایت باعث نابودی باکتری می‌شود (۳۳, ۳۴, ۳۸). اتصال کُلیستین 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 فسفواتانل آمین (*PEtN*) که اساس مقاومت به کُلیستین را تشکیل می دهند، توسط کروموزوم باکتری کد می شوند. این ژن ها در تلفیق سیستم های تنظیمی دوقسمتی نقش دارند; *PmrA/PmrB* و Phop/*PhoQ* و *mgrB* که یک تنظیم کننده منفی است و با پلاسمید و انتقال افقی ژن ها نقش خود را اعمال می کند. اپرون *pmrABC* (*BasR*)*pmrA*و(*BasS*)*pmrB* را به عنوان یک پروتئین تنظیم کننده کد می کند، یک سنسور کیناز متصل به غشای سیتوپلاسمی می باشد و *pmrC* یک پروتئین غشایی قوی می باشد(۴۱-۳۹). به عبارتی بیشترین مقاومت به کُلیستین بواسطه تغییراتی است که در غشای خارجی باکتری‌ها و به دنبال تغییر در LPS و کاهش در شارژ منفی آن صورت می گیرد(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 می توان 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، نمک های صفراوی، رنگ‌ها و نیز پروتئین‌های Sap که توسط ژن ATPase کد می شود، اشاره کرد. گزارش شده است که افزایش مقاومت به کُلیستین 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 کُلیستین، همچنین می‌توانند سایر ژن‌های تولید کننده بتالاکتاماز، کاربانمازها و همچنین مقاومت به کینولون ها، فلورکینولون ها و آمینوگلیکوزیدها را نیز هم‌زمان داشته باشند. مقاومت به کُلیستین از طریق مکانیسم پلاسمید نگرانی هایی 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 می باشد که بیان آن منجر به اضافه شدنPETN به لیپید A می شود(۳۴, ۴۴). *mcr-1* و *mcr-2*روی پلاسمیدهای کونژوگه قرار دارند. گزارش ها در مورد این دو ژن نشان دهنده افزایش مقاومت به کُلیستین در ایزوله های *اشرشیا کلی* (*E.coli*) و *کلبسیلا پنومونیه*(*K.pneumonia*) می باشد. نتایج چندین تحقیق دیگر نیز وجود انواع *mcr* مانند *mcr-3* ،*mcr-4* و*mcr-5* را در *E.coli*و جدایه های سالمونلا گزارش کرده اند. . بعلاوه در چین، *mcr* − 7 در *کلبسیلا پنومونیه* گزارش شده است. شناسایی ژن های mcr برای اولین بار در جنوب شرقی ایران در جدایه های *E.*

coli و *K.pneumonia* گزارش شده است(۴۵). بیش از ۱۱ واریانت ژنتیکی از *mcr-1* (*mcr-1.2, mcr1.3,...* *mcr1.12*) 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 کُلیستین و کاربا‌پنم را که ناقل *blaNDM-1*و *mcr-9* 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 ژن‌های مقاومت به آنتی بیوتیک در سازمان ژنومی ارائه شد . داده ها از ۴۵۷ کشور و ۵ قاره جمع آوری و اعلام شدکه تمامی عناصرموجود *mcr-1*، بواسطه ترانسپورون ISApl1 در اواسط سال ۲۰۰۰ (۲۰۰۸-۲۰۰۲) کاهش یافته است. در مطالعه مذکور نهایتا توزیع جهانی ژنهای مقاومت به شکل فعلی آن جمع بندی و ارائه شد(۴۷).

از طرفی بر اساس گزارش‌ها غیر فعال سازی *mgrB* شایع‌ترین مکانیسم برای مقاومت به کُلیستین 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 می‌کند. نتایج پژوهشی در کشورمان تغییر *mgrB* را به‌عنوان مکانیسم عمده مداخله‌گر در مقاومت به کُلیستین در جدایه های بالینی در ایران نشان داد(۴۸). محققی نشان داد که موتاسیون در ژن *mgrB* یک مکانیسم نوظهور همراه با مقاومت نسبت به کُلیستین است. علاوه بر این موتاسیون در *mgrB* پایداری بیشتری در مقایسه با موتاسیون در *pmrAB* یا *PhopQ* نشان می دهد(۱۰).

به‌علاوه ناقل بودن برای *mcr-1* به‌عنوان یک شاخص مقاومت به نسل سوم سفالوسپورین ها و کاربا‌پنم هاگزارش شده است. در کل وجود ژن *mcr-1* به‌تنهایی برای ایجاد مقاومت نسبت به کُلیستین بدون وجود دیگر مکانیسم‌های مقاومت کافی است. محققین برای اولین بار بیان (*NDM-5*) New Delhi metallo-enzyme را در *E.coli* به عنوان ناقل *mcr-1*گزارش کرده اند. وجود این مسئله به دلیل ظهور پاتوژن های حقیقیPDR از زمینه های قابل توجه بالینی می‌باشد(۴۹). اخیراً(۵۰) یک ژن مقاومت به کُلیستین جدید وابسته به پلاسمید ، به‌عنوان *mcr-2* در *E.coli* گزارش کرده‌اند. بعداً ژن‌های *mcr3*تا *mcr 8* هم شناسایی شده است(۳, ۵۰, ۵۱). در تحقیقی دیگر، در سال ۲۰۱۰ ژن *mcr- 9* نیزکه شباهت بسیاری به *mcr-3* دارد در سالمونلا تیفی موریوم MDR گزارش شده است (۵۲). *mcr-9* روی پلاسمید قرار دارد.آنالیز ژنی نشان دادکه 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 درنهایت منجر به تغییر لیپوپلی‌ساکارید می شود(۵۳).

علاوه برمعرفی اثر ژن‌های متفاوت در مکانیسم‌های مولکولی مقاومت به کُلیستین، به دلیل اثرات جانبی کُلیستین، مخصوصاً نفروتوکسیک بودن آن و نیز به دلیل روشن نبودن دوز بهینه آن، اهمیت استفاده از درمان ترکیبی در مقایسه با مونوتراپی مورد تائید و تأکید قرار گرفته است (۵۴-۵۶). در کشورمان، نتایج تحقیقی مفید بودن درمان ترکیبی با کُلیستین را درکاهش مقاومت به ریفامپین در جدایه‌های *استینتوباکتربومانی* MDR تائید کرده است (۵۷, ۵۸).

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

مواد وروش ها

تحقیق حاضر به‌صورت مروری روایتی انجام شد. برای این منظور در پایگاه‌های اطلاعاتیWeb Of Science، Scopus، PubMed و Scientific Information Databases، Science Direct و موتور جستجوگر google scholarبا استفاده از کلیدواژه‌های "

Gram ،"Antibiotic Resistance "،"Colistin
" "Iran", negative"," "Epidemiology,"
"ESBL, "Molecular mechanisms" یا ترکیبی از آن‌ها در پایگاه‌های انگلیسی‌زبان و با کلیدواژه‌های کُلیستین، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، گرم منفی، اپیدمیولوژی، ایران، بتالاکتامازها ی با طیف وسیع و مکانیسم‌های 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، مکانیسم‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی به داروی کُلیستین مشخص گردید.

طیف عملکرد ژن‌های مقاومت به کُلیستین: در بررسی مکانیسم های مولکولی مقاومت نسبت به کُلیستین، *PmrA* را به عنوان یک هدف قوی دارویی در ارزیابی اثربخشی کُلیستین موردبررسی قرارداده اند. با حذف این ژن افزایش حساسیت نسبت به کُلیستین در ۱۰ مورد از ۱۲ مورد ایزوله‌های بالینی *اسینتوباکتر بومانی* با مقاومت وسیع دارویی (XDR) نشان داده شد. علاوه براین در این تحقیق نشان داده شد که هدف گیری pet N Transferase ممکن است باعث حفظ فعالیت آنتی‌بیوتیک‌های پلی میکسین شود(۷). در پژوهشی دیگری که به‌منظور بررسی مکانیسم‌های مولکولی مقاومت نسبت به کُلیستین انجام گرفت، موتاسیون در ژن‌های *mgrB*، *PmrA* و *PmrB* و نیز وجود ژن‌های *mcr-1* و *mcr-2* بررسی شد. افزایش میزان بیان ژن‌های مسئول تغییرات غشای سلولی به عنوان شایع‌ترین مکانیسم ایجاد مقامت معرفی شد . وجود ژن‌های *mcr-1* و *mcr-2* که از علل مقاومت به کُلیستین باواسطه پلاسمید هستند در هیچ‌یک از سویه‌ها شناسایی نشد(۵). لذا همان‌طور که مشاهده می‌شود مکانیسم مقاومت بواسطه ژن *PmrA* در دو تحقیق فوق همخوانی ندارند و احتمال دخالت سایر ژن‌ها را مطرح می‌سازد.

در تحقیق دیگری که در سال ۲۰۱۶ انجام گرفت، برای اولین بار نکته جدیدی در مورد مقاومت به کُلیستین پیدا شد. محققان دریافتند که *اشرشیاکلی* ژنی را حمل می کند که باعث مقاومت به کُلیستین می‌شود. در این زمینه ژن *mcr-1* بعنوان عامل اثربخش نبودن کُلیستین در درمان انتروباکتریاسه های مقاوم به کارباپنم اعلام شد(۵۹). دومین گزارش از ژن *mcr-1* در *اشرشیا کلی* در مورد مقاومت نسبت به کُلیستین از چین بود(۲۰۱۶). این ژن قبلاً در *اشرشیا کلی و کلبسیلا پنومونیه*، به عنوان دو گونه از انتروباکتریاسه، در شماری از خوک‌ها و بیماران جنوب چین مشاهده‌شده بود. نتایج این پژوهش با نتایج Nezhadi و همکاران در ایران که حساسیت به کُلیستین را با مهار بیان *mcr-1* توسط PNA (یک آنتی‌بیوتیک پپتیدی) در *E.coli kp81* نشان دادند، همخوانی دارد (۵۹-۶۱). در پژوهش دیگری نقش مقاومت به کُلیستین را به‌اضافه کردن pEtN به لیپید A ارتباط داده‌اند. ژن *pmrC* کنترل عملکرد فوق را بعهده دارد . در اوپرون *pmrCAB* واجد این ژن موتاسیون های بی‌معنی دیده می شود (۶۲). Haeili و همکارانش نیز در ایران با روش RT-qPCR مقاومت به کُلیستین را با افزایش زیاد بیان *pmrC* مرتبط نشان دادند (۶۳). همان‌طور که مشاهده می‌شود نتایج این دو محقق در تائید نقش *pmrC* در مقاومت به کُلیستین مطابقت دارند.

حساسیت به کُلیستین در نتایج مطالعه‌ای در ایزوله‌های ۱۸ نمونه *اسینتوباکتر بومانی* و ۲۱ نمونه *پسودوموناس آئرژینوزا* از نمونه های خلط و اندوتراکئال بیماران بستری در بیمارستانی در جنوب ایران نیزگزارش‌شده است. در این مطالعه محققان افزایش حجم نمونه‌ها را برای نتیجه‌گیری بهتری پیشنهاد می کنند(۶۴). نتایج پژوهشی در مورد *کلبسیلا اکسی توکا* جداشده از کشت خون بیماران دارای مقاومت نسبت به کاربا‌پنم ها و کُلیستین، بدون هیچ سابقه‌ای از مقاومت وسیع دارویی نسبت به باسیل‌های گرم منفی، نشان داد که مقاومت به کُلیستین به ژن *mcr-1* مربوط نبوده بلکه به اینتگرون سکانس شبیه IS5 در ژن *mgrB* از *کلبسیلا اکسی توکا* مرتبط است (۶۵). در مطالعه ی دیگری

نیز مقاومت به کُلیستین را بدون هیچ سابقه‌ای از مصرف قبلی این داروگزارش کرده‌اند(۲۱). اینتگرون ها المنت‌های ژنتیکی متحرک هستند که با قرارگیری در پلاسمیدها، کروموزوم‌ها و ترانسپوزون ها، ژن‌های مقاومتی موجود در کاست‌های ژنی را حمل و جابجا می‌کنند.آنزیم *VIM-2* از آنزیم‌های بتالاکتاماز است که درساختاراینتگرون های کلاس Iو III از مکان‌های مختلف جغرافیایی جداشده است(۶۶).

در پژوهشی که برای بررسی مکانیسم‌های مقاومت به کُلیستین انجام گرفت، علاوه بر نقش ژن‌های کروموزومی و پلاسمیدی، نقش سایر عوامل ازجمله برهم‌کنش عوامل میزبانی، باکتری ها و عوامل محیطی را نیز تائید و پیشنهاد کردند که به‌منظور شناسایی سریع موتاسیون های مسئول ایجاد مقاومت دارویی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های جدید، روش توالی یابی با بازدهی بالا (High-throughput sequencing technology) با استفاده از الگوریتم‌های بیوانفورماتیک و کامپیوتری در مجموعه کامل ژنوم های باکتریایی اضافه شود(۲). در تحقیق دیگری نیز استفاده از ابزارهای پیشرفته محاسباتی برای بررسی داده های مربوط به توالی های ژنتیکی را به عنوان بخشی از ابزارهای روزمره در نظارت بر بیماری‌های عفونی مورد تأکید قرار داده است(۴۷, ۶۷, ۶۸).

درمان تک دارویی با کُلیستین و مقاومت به دارو:

ازآنجاکه مونوتراپی با کُلیستین ازجمله مکانیسم‌های مقاومت به این دارو معرفی‌شده؛ بنابراین به‌منظور بررسی اثربخشی این دارو، در استفاده از ترکیب دارویی آن مخصوصاً با کاربانیم ها نیز پژوهش‌هایی صورت گرفته است که در زیر به بعضی از آنها اشاره می‌شود. در مطالعه ای نقش مینوسیکلین به‌تنهایی و در ترکیب باکُلیستین برای درمان عفونت‌های بیمارستانی *اسینتوباکتر بومانی* ,MDR XDR موردبررسی 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 کُلیستین یا کاربانیم ها دریافت کرده بودند. دراین مطالعه ترکیب مینوسیکلین با کُلیستین را در درمان اسینتوباکترهای دارای مقاومت چندگانه دارویی (MDR) موثر نشان دادند(۴, ۶۹).

پژوهش‌های مشابهی نیز وجود دارند که نقش درمان ترکیبی با کُلیستین را موثر نشان داده اند. به عنوان مثال نقش پلی میکسین ها در درمان عفونت های ناشی از باکتری کلبسیلای NDM تایید شده است. زمانی که کُلیستین در ترکیب با ریفامپین یا تیگسیکلین استفاده شود، اثر درمانی فوق بیشتر مشاهده می‌شود. همچنین استفاده از آویباکتام در ترکیب با سفتازیدیم یک درمان مؤثر برعلیه عفونت‌های شدید است(۷۰). همین نتایج با سولباکتام، مخصوصاً در ترکیب منوپنم و کُلیستین دیده می‌شود. در تحقیق دیگری نیز ترکیب دارویی کُلیستین با ریفامایسین/کاربانیم به عنوان مهم‌ترین استراتژی ضدمیکروبی بر علیه *اسینتوباکتر بومانی* اعلام شده است (۳۲). در مطالعه‌ی دیگری اثر بخشی کُلیستین آئروسلیزه شده در درمان پنومونی وابسته به ونتیلاتور Ventilator Associated Pneumonia(vap) ارزیابی شده و مفید بودن آن مورد تائید قرارگرفته است (۷۱).

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

نتیجه گیری

با توجه به اهمیتی که کُلیستین به‌عنوان 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 کُلیستین و گسترش سایر مکانیسم‌های مقاومت در سراسر جهان، به تجویز منطقی کُلیستین و استفاده از درمان ترکیبی آن همراه با آنتی بیوتیک هایی نظیر تیگسیکلین، ریفامپین، سولباکتام (که نقش مؤثری در اثربخشی درمان داشته است) توصیه

می‌شود. همان‌طور که نقش موتاسیون در ایجاد مقاومت برجسته است، بنابراین به‌منظور درمان درست و به‌موقع عفونتهای باکتریایی بایستی در آینده تشخیص سریع موتاسیون های عامل مقاومت دارویی با روش‌های مناسب و نیز توجه به برهم‌کنش های باکتری، میزبان و عوامل محیطی موردتوجه قرار گیرد.

نویسنده مقاله اظهار می دارد که انتشار این مقاله هیچگونه تضاد یا تعارض منافعی با افراد یا دستگاه های خاصی ندارد.
بدین‌وسیله از زحمات خانم نادیا شرفکندی دانشجوی ارشد ایمنی‌شناسی در قسمت ویراستاری مقاله تشکر و قدردانی می‌شود.

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, Pourlak 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 ISAba 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 baumanni*i. 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. ISPpu22, 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, Shokoohizadeh 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 i*n 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 pneumonia*e 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, Guldimann 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.Pourhajibagher 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.Płusa T. Pathogenetic conditions of treatment of infections caused by antibiotic-resistant strains *Klebsiella pneumoniae*. Polski 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.