DOI: 10.48305/jims.v40.i686.0678

مجله دانشکده پزشکی اصفهان — سال چهلم/شماره‌ی ۶۸۶/هفته‌ی دوم آبان ۱۴۰۱

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۶/۸ — تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۷/۱۰ — تاریخ چاپ: ۱۴۰۱/۸/۱۴

مقاومت به کلیستین و ردیابی ژن *mcr-1* در ایزوله های پسودوموناس ائروژینوزا مقاوم به چند دارویی جدا شده از زخم بیماران مبتلا به سوختگی بستری شده در بیمارستان

مهسا معرفیان[۱]، فرخنده پورسینا[۲]، تهمینه نریمانی[۲]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: افزایش روزافزون مقاومت آنتی‌بیوتیک به ویژه به کلیستین در پسودوموناس آئروژینوزا مقاوم به چند دارویی *Multidrug-resistant Pseudomonas (aeruginosa)*، یکی از عوامل مهم مرگ و میر در عفونت‌های زخم در بیماران سوختگی می‌باشد. هدف از این مطالعه، بررسی شیوع مقاومت به کلیستین به عنوان خط آخر درمان در ایزوله‌های *MDR P. aeruginosa* زخم بیماران بستری و ردیابی ژن *mcr-1* بود.

روش‌ها: تعداد ۷۲ ایزوله‌ی *P. aeruginosa* جدا شده در آزمایشگاه بیمارستان امام موسی کاظم(ع) اصفهان با استفاده از تکنیک‌های استاندارد میکروبیولوژیکی ارزیابی و تأیید شدند. حساسیت آنتی‌بیوتیکی توسط روش استاندارد دیسک دیفیوژن نسبت به ۸ آنتی‌بیوتیک و حداقل غلظت مهاری MIC (Minimum inhibitory concentration) کلیستین بررسی گردید. حضور ژن *mcr-1* با استفاده از پرایمرهای اختصاصی و PCR (Polymerase chain reaction) ردیابی شد.

یافته‌ها: از بین ۷۲ ایزوله، تعداد ۵۰ (۶۹/۴۴ درصد) *P. aeruginosa* مقاوم به چند دارویی شناسایی شدند که بیشترین مقاومت نسبت به لوفلوکساسین (۹۸ درصد) و سیپروفلوکساسین (۹۲ درصد) و کم‌ترین مقاومت نسبت به پیپراسیلین تازوباکتام (۴۰ درصد) بود. فقط ۲ درصد از ایزوله‌ها مقاومت کامل را به تمامی آنتی‌بیوتیک‌ها نشان دادند. مقاومت به کلیستین در ۱۴ درصد و ژن *mcr-1* در ۲ درصد ایزوله‌ها ردیابی شد.

نتیجه‌گیری: مقاومت ۱۴ درصدی *P. aeruginosa* نسبت به کلیستین در سویه‌های جدا شده از عفونت‌های سوختگی در اصفهان و فراوانی ۲ درصدی ژن *mcr-1* در این مطالعه، اهمیت تشخیص زودهنگام مقاومت به کلیستین، ردیابی ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی و عدم تجویز بی‌مورد این دارو برای کنترل عفونت‌های بیمارستانی را نشان می‌دهد.

واژگان کلیدی: زخم؛ *Pseudomonas aeruginosa*؛ مقاومت آنتی‌بیوتیکی؛ کلیستین؛ *mcr-1*

ارجاع: معرفیان مهسا، پورسینا فرخنده، نریمانی تهمینه. **مقاومت به کلیستین و ردیابی ژن *mcr-1* در ایزوله های پسودوموناس ائروژینوزا مقاوم به چند دارویی جدا شده از زخم بیماران مبتلا به سوختگی بستری شده در بیمارستان.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۴۰۱؛ ۴۰ (۶۸۶): ۶۸۴-۶۷۸

مقدمه

Pseudomonas aeruginosa، یک پاتوژن فرصت‌طلب و دومین عامل شایع عفونت‌های تهدیدکننده مانند سپسیس، پنومونی مرتبط با ونتیلاتور، عفونت زخم به ویژه در بیماران با سوختگی‌های شدید و مجاری ادراری در نظر گرفته می‌شود (۱، ۲). علاوه بر سطح بالای مقاومت ذاتی این باکتری به بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌ها و کسب مکانیسم‌های مقاومتی متنوع دیگر، ایجاد سویه‌های مقاوم به چند دارو منجر به موارد بیشتری از عفونت‌های پایدار می‌شود (۱). افزایش سویه‌های *MDR P. aeruginosa* به خصوص مقاومت به کاربا‌پنم‌ها در زخم (ناشی از سوختگی)، به طور فزاینده‌ای گزینه‌های درمانی را محدود و آن را به مشکل مهمی در بهداشت عمومی تبدیل کرده است که می‌تواند منجر به تأخیر در درمان یا شکست و افزایش میزان مرگ و میر افراد شود به همین علت مرکز کنترل و پیشگیری بیماری CDC (Centers for Disease Control and Prevention)، سویه‌های *multidrug-resistant P. aeruginosa* را به عنوان «یک تهدید فوری برای سلامتی انسان‌ها» تعیین نموده است (۳).

۱- کارشناسی ارشد میکروب‌شناسی پزشکی، گروه باکتری و ویروس‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- استادیار، گروه باکتری و ویروس‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: فرخنده پورسینا: استادیار، گروه باکتری و ویروس‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

Email: poursina@med.mui.ac.ir

پلی میکسین‌ها (کلیستین) گروهی از آنتی بیوتیک‌های پلی پپتیدی باکترسیدال هستند که به عنوان آخرین گزینه‌ی درمانی برای عفونت‌های ناشی از سویه‌های MDR و XDR (Extensively drug-resistant) استفاده می‌شوند (٤). کلیستین به لیپوپلی ساکارید (Lipopolysaccharides) LPS روی غشای خارجی باکتری‌های گرم منفی متصل می‌شود که با برهمکنش الکترواستاتیکی بین آنتی‌بیوتیک با بار مثبت و گروه فسفات با بار منفی لیپید A، ایجاد منافذی می‌کند و باعث افزایش نفوذپذیری غشای سلولی و نشست محتوای سیتوپلاسمی و در نهایت لیز شدن سلول می‌شود (٥). از جمله مکانیسم‌های مقاومت به کلیستین در باکتری‌های گرم منفی می‌توان به موارد زیر اشاره کرد: ١- تغییرات در غشاء خارجی، ٢- کاهش سطح پروتئین‌های غشاء خارجی، ٣- بیان بیش از حد پمپ‌های خارجی و ٤- تغییرات در سیستم‌های دو جزئی (*PmrAB*، *PhoQP*، *ParRS*) (٦، ٧).

برای اولین بار Liu و همکاران در سال ٢٠١٦ در چین، ژن مقاومت به کلیستین *mcr-1* با واسطه‌ی پلاسمیدی را در ایزوله‌های حیوانی و انسانی *اشریشیاکلی* و *کلبسیلا پنومونیه* گزارش کردند (٨). ژن *mcr-1* با کد کردن فسفواتانول آمین ترانسفراز، فسفواتانول آمین را به گروه ٤'- فسفات لیپید A در غشای خارجی باکتری (OM) کاتالیز می‌کند و در نتیجه باعث ایجاد مقاومت به کلیستین می‌شود (٩).

با توجه به نقش بسیار مهم ژن *mcr-1* و نیزگسترش شیوع عفونت‌های ایجاد شده *MDR P. aeruginosa* در بیمارستان سوختگی اصفهان و نیز با توجه به مطالعات بسیار کمی که در ایران در زمینه‌ی نقش ژن *mcr-1* صورت گرفته است، برآن شدیم فراوانی مقاومت به کلیستین و ردیابی ژن *mcr-1* در سویه‌های *MDR P. aeruginosa* جدا شده از زخم افراد بستری در بیمارستان امام موسی کاظم(ع)، را بررسی کنیم.

روش‌ها

این مطالعه از نوع مقطعی است که با کد شماره: IR.MUI.MED.REC.1399.225، به تصویب کمیته‌ی اخلاق در پژوهش دانشگاه علوم پزشکی اصفهان رسید. از فروردین ماه ١٣٩٩ تا شهریورماه ١٤٠٠، تعداد ٧٢ ایزوله *P. aeruginosa* از نمونه‌های زخم بیماران مبتلا به سوختگی بستری در بیمارستان آموزشی امام موسی کاظم(ع) وابسته به دانشگاه علوم پزشکی اصفهان جمع‌آوری گردید. نمونه‌ها روی محیط‌های مک کانکی آگار و آگار خون‌دار تلقیح و در دمای ٣٧ درجه‌ی سانتی‌گراد انکوبه شدند. تمامی جدایه‌ها بر اساس آزمایشات بیوشیمیایی همانند عدم تخمیر قندها در محیط TSI، قابلیت رشد در دمای ٤٢ درجه‌ی سانتی‌گراد، بررسی اکسیداز (مثبت)، کاتالاز (مثبت)، اوره آز، لیزین دکربوکسیلاز، اورنیتین دکربوکسیلاز، H_2S و Indole test, Methyl red test, Voges-Proskauer, Citrate test (IMViC) شناسایی و تأیید شدند (١٠). سپس جدایه‌ها برای مطالعات بعدی در محیط (Brain heart infusion) BHI broth با ٢٠ درصد گلیسرول در دمای ٢٠- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند.

تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی: مطابق دستورالعمل‌های CLSI 2020 (Clinical and Laboratory Standards Institute) تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی با روش دیسک دیفیوژن (Kirby- Bauer) برای ٨ آنتی‌بیوتیک مختلف انتخابی شامل آزترئونام (٣٠ میکروگرم)، آمیکاسین (٣٠ میکروگرم)، سیپروفلوکساسین (٥ میکروگرم)، لووفلوکساسین (٥ میکروگرم)، سفپیم (٣٠ میکروگرم)، سفتازیدیم (٣٠ میکروگرم)، ایمی پنم (١٠ میکروگرم) و پیپراسیلین/تازوباکتام (١٠٠ میکروگرم/ ١٠ میکروگرم) (MAST) و بر روی محیط مولر هینتون آگار (Merck) انجام شد. جدایه‌ها بر اساس استانداردهای تفسیر مناطق بازدارندگی به عنوان حساس، نیمه حساس و مقاوم طبقه‌بندی شدند. باکتری‌های مقاوم از جدایه‌ها شناسایی و ادامه‌ی آزمایشات بر روی آن‌ها انجام شد (٣).

تعیین MIC آنتی‌بیوتیک کلیستین: مقاومت به کلیستین به طور فنوتیپی با روش (Broth micro delusion) BMD، با استفاده از پودر سولفات کلیستین (Sigma) بر اساس دستورالعمل CLSI 2020 انجام شد. از براث مولر-هینتون تنظیم شده با کاتیون (CaMHB) برای آزمایش‌های معمول حساسیت رقیق‌سازی براث باکتری‌های گرم منفی استفاده گردید. pH نهایی بین ٧/٢ تا ٧/٤ تنظیم شد. MIC با محدوده‌ای شامل µg/ml ٢٥٦-٠/٢٥ انجام گرفت که در آن مقدار MIC ≤ ٢ نیمه حساس و MIC ≥ ٢ مقاوم محسوب شدند (١١، ١٢). برای اطمینان از تکرارپذیری نتایج، همه‌ی آزمایش‌ها به صورت سه‌گانه انجام شد. سوش استاندار 53 *P. aeruginosa ATCC 278* به عنوان سوش استاندارد برای ارزیابی کنترل کیفی آزمایش‌های تشخیصی و آنتی‌بیوگرام به کار رفت.

استخراج DNA باکتری به روش فنل کلروفرم استخراج و DNA علاوه بر کنترل کمی با استفاده از نانو دراپ- اسپکتروفتومتر، کیفیت DNA استخراج شده بر روی ژل آگارز ١/٥ درصد با لودینگ بافر درسیستم ژل الکتروفورز نیز ارزیابی گردید (١٣).

ردیابی ژن مقاومت به کلیستین (mcr-1): به منظور بررسی حضور ژن *mcr-1* پلاسمیدی در جدایه‌ها، واکنش PCR با استفاده از پرایمر '٣-CGGTCAGTCCGTTTGTTC-'٥ به عنوان فوروارد و '٣-CTTGGTCGGTCTGTAGGG-'٥ به عنوان معکوس انجام شد (٨). در این مطالعه از Master Mix تجاری شرکت

آمپلیکون دانمارک استفاده گردید که حاوی مواد لازم برای انجام PCR به استثنای پرایمر، DNA الگو و آب مقطر می‌باشد. آب دوبار تقطیر شده، پرایمر و DNA الگو رابه میکروتیوپ‌های Master Mix اضافه نمودیم. تکثیر DNA بر اساس برنامه‌ی زیر انجام شد: دناتوراسیون اولیه در دمای ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، ۲۵ چرخه، دناتوراسیون در دمای ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه، اتصال در دمای ۵۱ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، گسترش در دمای ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه و گسترش نهایی در دمای ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه (۱۴). از سویه‌ی *E. coli KP81* به عنوان کنترل مثبت (دارنده‌ی ژن *mcr-1*) استفاده شد.

نتایج با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۵ (version 25, IBM Corporation, Armonk, NY) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. تجزیه و تحلیل‌های آماری با استفاده از تحلیل واریانس یک طرفه، Chi-square با معنی‌داری ۰/۰۵ > انجام شد.

یافته‌ها

از مجموع ۷۲ ایزوله‌ی جمع‌آوری شده، (۶۹/۴۴ درصد) ۵۰ سویه *P. aeruginosa* مقاوم شناسایی شدند. ۲۳ ایزوله (۴۶ درصد) از مردان و ۲۷ ایزوله (۵۴ درصد) از زنان جمع‌آوری شد. محدوده‌ی سنی بیماران بین ۱۸ تا ۷۲ سال بود. تست حساسیت ضد میکروبی به روش دیسک دیفیوژن نشان داد که بیشترین میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی در باکتری *P. aeruginosa* مربوط به آنتی‌بیوتیک‌های لوفلوکساسین (۹۸ درصد)، سیپروفلوکساسین (۹۲ درصد)، آمیکاسین (۸۴ درصد)، ایمی پنم (۷۶ درصد) و سفپم (۶۶ درصد) و کم‌ترین میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی مربوط به آنتی‌بیوتیک‌های پیپراسیلین تازوباکتام (۴۰ درصد)، آزترونام (۴۲ درصد) و سفتازیدیم (۵۲ درصد) بود. نتایج مربوط به مقاومت آنتی‌بیوتیکی در جدول ۱ قابل مشاهده است. همچنین ۳۹ ایزوله (۷۸ درصد) به عنوان MDR، ۱۰ ایزوله (۲۰ درصد) به عنوان XDR و ۱ ایزوله (۲ درصد) به عنوان PDR (Pandrug-resistant) در نظر گرفته شدند.

جدول ۱. الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های مقاوم *P. aeruginosa* جدا شده از زخم بیماران بستری به روش دیسک دیفیوژن

آنتی‌بیوتیک	میزان مقاومت		
	مقاوم تعداد (درصد)	حساسیت حد واسط تعداد (درصد)	حساس تعداد (درصد)
سفپم	۳۳ (۶۶)	۶ (۱۲)	۱۱ (۲۲)
سفتازیدیم	۲۶ (۵۲)	۴ (۸)	۲۰ (۴۰)
آمیکاسین	۴۲ (۸۴)	۰	۸ (۱۶)
ایمی پنم	۳۸ (۶۶)	۵ (۱۰)	۷ (۱۴)
پیپراسیلین/تازوباکتام	۲۰ (۴۰)	۱۲ (۲۴)	۱۸ (۳۶)
سیپروفلوکساسین	۴۶ (۹۲)	۱ (۲)	۳ (۶)
لووفلوکساسین	۴۹ (۹۸)	۱ (۲)	۰
آزترونام	۲۱ (۴۲)	۸ (۱۶)	۲۱ (۴۲)

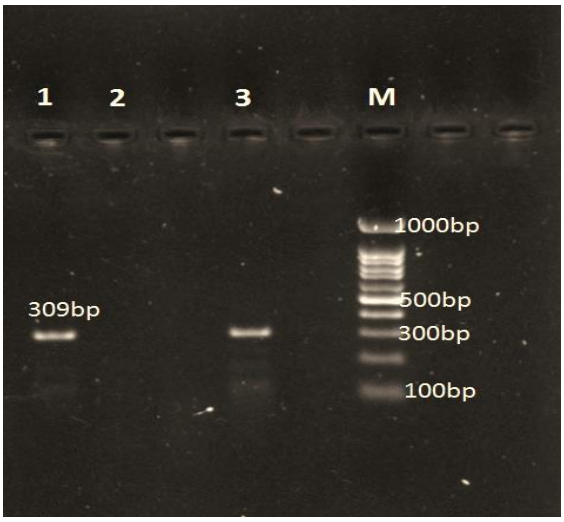
مقادیر MIC کلیستین: بررسی نتایج آزمون مقاومت به کلیستین به شرح زیر است: از مجموع ۵۰ ایزوله‌ی مورد مطالعه، ۴۳ مورد از آن‌ها MIC ≤ ۲ میکروگرم در میلی‌لیتر کلیستین را نشان دادند که به عنوان سویه‌های نیمه حساس شناسایی شدند. ۶ جدایه MIC در محدوده‌ی ۴ تا ۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر را نشان دادند و ۱ ایزوله MIC بالاتری از ۸ میکروگرم در میلی‌لیتر را نشان داد. لازم به ذکر است که از ۷ سویه‌ی مقاوم به کلیستین، ۶ (۸۵/۷۱ درصد) ایزوله به تمامی آنتی‌بیوتیک‌های سفپم، سیپروفلوکساسین، آمیکاسین و لووفلوکساسین مقاوم بودند (جدول ۲).

جدول ۲. الگو حساسیت ضد میکروبی و توزیع ژن *mcr-1* در بین جدایه‌های مقاوم *P. aeruginosa*

ایزوله	کلیستین MIC µg/ml	ژن *mcr-1*	حساسیت آنتی‌بیوتیک دیسک دیفیوژن	MDR XDR or PDR
۱	۴	+	سفپم، سفتازیدیم، آمیکاسین، ایمی پنم، پیراسیلین/تازوباکتام، سیپروفلوکساسین، لووفلوکساسین	XDR
۲	۴	-	سفتازیدیم، آمیکاسین، پیراسیلین/تازوباکتام، سیپروفلوکساسین، لووفلوکساسین	MDR
۳	۴	-	سفپم، سفتازیدیم، آمیکاسین، ایمی پنم، پیراسیلین/تازوباکتام، سیپروفلوکساسین، لووفلوکساسین	XDR
۴	۱۶	-	سفپم، سفتازیدیم، آمیکاسین، پیراسیلین/تازوباکتام، سیپروفلوکساسین، لووفلوکساسین، آزترونام	XDR
۵	۴	-	سفپم، سفتازیدیم، آمیکاسین، سیپروفلوکساسین، لووفلوکساسین،	MDR
۶	۴	-	سفپم، سفتازیدیم، آمیکاسین، پیراسیلین/تازوباکتام، سیپروفلوکساسین، لووفلوکساسین	MDR
۷	۸	-	سفپم، سفتازیدیم، آمیکاسین، سیپروفلوکساسین، لووفلوکساسین، آزترونام	MDR

MDR: multidrug-resistant; XDR: Extensively drug-resistant; PDR: Pandrug-resistant; *mcr-1*, mobilized colistin resistance gene; MIC: Minimal inhibitory concentration.

ردیابی ژن mcr-1 بر اساس نتایج PCR، از مجموع ۵۰ ایزوله‌ی مقاوم *P. aeruginosa*، تنها یک مورد (۲ درصد) مقاوم به کلیستین حاوی ژن *mcr-1* و رنج مقاومت به کلیستین آن ٤ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود (شکل ۱). نکته‌ی جالب توجه این است که این ایزوله به تمامی آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده در مطالعه به جز آزترونام مقاوم بود (جدول ۲).



شکل ۱. الگوی الکتروفورزی ژن *mcr-1* در جدایه‌های *P. aeruginosa*. چاهک M: مارکر 100 bp، 1: کنترل مثبت (*E. coli* KP81)، 2: کنترل منفی (فاقد ژن *mcr-1*)، 3: نمونه بالینی

آنالیز آماری نشان داد که ارتباط معنی‌داری بین سن و جنسیت افراد با حضور ژن *mcr-1* وجود نداشت ($P > ۰/۰۵$).

بحث

مقاومت به آنتی‌بیوتیک کاربانپم در مطالعه‌ی ما، ۷٦ درصد گزارش شده است که افزایش مقاومت به این آنتی‌بیوتیک، یکی از علت‌های اصلی استفاده‌ی مجدد از کلیستین (آنتی‌بیوتیک قدیمی) برای درمان عفونت‌های ناشی از *MDR P. aeruginosa* است. بنابراین تعیین شیوع و الگوی مقاومت به آخرین خط درمانی در سویه‌های MDR ضروری است. تاکنون میزان مقاومت به کلیستین در P. aeruginosa در ایران از ۰ تا ١٦/٦٦ درصد گزارش شده است. در مطالعه‌ی حاضر، ١٤ درصد جدایه‌ها، مقاوم به کلیستین بودند. این نتایج با بسیاری از مطالعاتی که مقاومت ضد باکتریایی به کلیستین را نسبت به P. aeruginosa نشان دادند، مطابقت داشت، از جمله مطالعه‌ی Tahmasebi و همکاران (۱۵) در سال ۲۰۲۰ در زاهدان (١٦/٦٦ درصد) و مطالعه‌ی Hameed و همکاران (١٦) در سال ۲۰۱۹ در پاکستان (۱۱/۹ درصد).

علاوه بر این، یافته‌های مقاومت به کلیستین در مطالعه‌ی ما با بسیاری از مطالعات دیگر، از جمله مطالعه‌ی Manohar و همکاران (۱۷) در سال ۲۰۱۷ در هند (۳۰ درصد) و ایزدی‌پور و همکاران (۱۸) در سال ۲۰۱۷ در شیراز (۲۵ درصد) در تضاد بود.

افزایش مقاومت به این آنتی‌بیوتیک نسبت به برخی از مطالعات قبلی را می‌توان به تفاوت در روش بررسی مقاومت سویه‌ها و از سوی دیگر اختلاف در مناطق جغرافیایی، انواع نمونه‌ها، تعداد موارد، سلامت کلی بیماران و در مواردی نیز مصرف بدون نسخه‌ی دارو نسبت داد. امروزه، ژن‌های پلاسمید *mcr* با پتانسیل بالا به سرعت در بین باکتری‌ها پخش می‌شوند و پتانسیل جمعیت باکتریایی برای مقاومت به کلیستین را افزایش می‌دهند.

در مطالعه‌ای که توسط Tahmasebi و همکاران بر روی *P. aeruginosa* جدا شده از خون افراد بستری صورت گرفت، هیچ ایزوله‌ای که دارنده‌ی ژن *mcr-1* باشد، یافت نشد (۱۵).

در مطالعه‌ی دیگری که توسط Abd El-Baky و همکارن در اروپا انجام شد، از بین ۲۳/۳ ایزوله‌های مقاوم به کلیستین *P. aeruginosa*، ۵۰ درصد آن‌ها دارنده‌ی ژن *mcr-1* بودند در حالی که در مطالعه‌ی حاضر با توجه به فراوانی ١٤ درصدی مقاومت به کلیستین، فراوانی ژن *mcr-1*، تنها ۲ درصد بود (۱۹). این موضوع نشانگر این است که مکانیسم‌های مقاومت احتمالی دیگر، چه کروموزومی یا پلاسمیدی، در ایجاد مقاومت نسبت به این آنتی بیوتیک می‌تواند نقش داشته باشد.

در این مطالعه برای اولین بار در ایران و شهر اصفهان، ژن *mcr-1* در جدایه‌های بالینی *P. aeruginosa* جدا شده از زخم افراد بستری، ۲ درصد گزارش شد. فراوانی این ژن در کشورهای آسیایی در مرتبه‌ی اول و بعد از آن اروپا و آمریکا به ترتیب با ۵۰/۳۳، ٢٤/٥ و ۱۹/۲۱ درصد گزارش گردیده است (۲۰، ۲۱). با توجه به نتایج به دست آمده در مطالعه‌ی حاضر و مطالعات قبلی، حضور سویه‌های مقاوم به کلیستین و یا دارنده‌ی ژن *mcr-1* در سویه‌های مقاوم به چند دارویی بیشتر شده است. بنابر استراتژی‌های درمانی متفاوت در بیمارستان‌های مختلف، میزان مقاومت به کلیستین در مناطق جغرافیایی متفاوت بود. از این‌رو به دست آوردن اطلاعات مربوط به مقاومت به کلیستین و ردیابی ژن‌های ایجادکننده‌ی مقاومت به آن در جهان بسیار مهم است زیرا این داده‌ها می‌تواند به ایجاد دستورالعمل‌های مناسب برای استفاده‌ی صحیح و خاص از این آنتی‌بیوتیک کمک کند.

نتیجه‌گیری

در مطالعه‌ی حاضر، مقاومت بالا به کلیستین و حضور ژن *mcr-1* در

سویه‌های *P. aeruginosa* جدا شده از نمونه‌ی زخم افراد بستری گزارش شده است. با توجه به نقش *P. aeruginosa* در ایجاد عفونت‌های زخم سوختگی در بیماران و همچنین ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی در کلونیزاسیون و بقاء این باکتری، تعیین مقاومت آنتی‌بیوتیکی جهت انتخاب آنتی‌بیوتیک مناسب به منظور جلوگیری از عفونت‌های حاصل از ایزوله‌های مقاوم و عفونت‌های غیرقابل درمان، امری ضروری است.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان نامه مقطع کارشناسی ارشد رشته میکروبشناسی پزشکی می‌باشد، که در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان به تصویب رسیده و با حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان به انجام رسیده است. بدین‌وسیله از زحمات گروه باکتری ویروس‌شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان تقدیر و تشکر می‌نماییم.

References

1. Kanayama A, Kawahara R, Yamagishi T, Goto K, Kobaru Y, Takano M, et al. Successful control of an outbreak of GES-5 extended-spectrum β-lactamase-producing Pseudomonas aeruginosa in a long-term care facility in Japan. J Hosp Infect 2016; 93(1): 35-41.
2. Klockgether J, Tümmler B. Recent advances in understanding *Pseudomonas* aeruginosa as a pathogen. F1000Res 2017; 6: 1261.
3. Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. Clin Microbiol Infect 2012; 18(3): 268-81.
4. Poirel L, Jayol A, Nordmann P. Polymyxins: antibacterial activity, susceptibility testing, and resistance mechanisms encoded by plasmids or chromosomes. Clin Microbiol Rev 2017; 30(2): 557-96.
5. Olaitan AO, Morand S, Rolain JM. Mechanisms of polymyxin resistance: acquired and intrinsic resistance in bacteria. Front Microbiol 2014; 5: 643.
6. Yu Z, Qin W, Lin J, Fang S, Qiu J. Antibacterial mechanisms of polymyxin and bacterial resistance. Biomed Res Int 2015; 2015: 679109.
7. Kato A, Chen HD, Latifi T, Groisman EA. Reciprocal control between a bacterium's regulatory system and the modification status of its lipopolysaccharide. Mol Cell 2012; 47(6): 897-908.
8. Liu YY, Wang Y, Walsh TR, Yi LX, 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.
9. Zeng KJ, Doi Y, Patil S, Huang X, Tian GB. Emergence of the plasmid-mediated mcr-1 gene in colistin-resistant Enterobacter aerogenes and Enterobacter cloacae. Antimicrob Agents Chemother 2016; 60(6): 3862-3.
10. Tramper-Stranders GA, Van der Ent C, Wolfs TF. Detection of pseudomonas aeruginosa in patients with cystic fibrosis. J Cyst Fibros 2005; 4(Suppl 2): 37-43.
11. Matuschek E, Åhman J, Webster C, Kahlmeter G. Antimicrobial susceptibility testing of colistin-evaluation of seven commercial MIC products against standard broth microdilution for Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa, and Acinetobacter spp. Clin Microbiol Infect 2018; 24(8): 865-70.
12. Satlin MJ, Lewis JS, Weinstein MP, Patel J, Humphries RM, Kahlmeter G, et al. Clinical and Laboratory Standards Institute and European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing position statements on polymyxin B and colistin clinical breakpoints. Clin Infect Dis 2020; 71(9): e523-9.
13. Abed Y, Davin A, Charrel RN, Bollet C, De Micco P. Variation of RAPD-fingerprint patterns using different DNA-extraction methods with Gram-positive bacteria. World J Microbiol Biotechnol 1995; 11(2): 238-9.
14. 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: 1001-10.
15. Tahmasebi H, Dehbashi S, Arabestani MR. Co-harboring of mcr-1 and β-lactamase genes in Pseudomonas aeruginosa by high-resolution melting curve analysis (HRMA): molecular typing of superbug strains in bloodstream infections (BSI). Infect Genet Evol 2020; 85: 104518.
16. Hameed F, Khan MA, Muhammad H, Sarwar T, Bilal H, Rehman TU. Plasmid-mediated mcr-1 gene in Acinetobacter baumannii and Pseudomonas aeruginosa: first report from Pakistan. Rev Soc Bras Med Trop 2019; 52: e20190237.
17. Manohar P, Shanthini T, Ayyanar R, Bozdogan B, Wilson A, Tamhankar AJ, et al. The distribution of carbapenem-and colistin-resistance in Gram-negative bacteria from the Tamil Nadu region in India. J Med Microbiol 2017; 66(7): 874-83.
18. Izadi Pour Jahromi S, Mardaneh J, Sharifi A, Pezeshkpour V, Behzad-Behbahani A, Seyyedi N, et al. Occurrence of a multidrug resistant Pseudomonas aeruginosa strains in hospitalized patients in southwest of Iran: Characterization of resistance trends and virulence determinants. Jundishapur J Microbiol 2018;11(4): e57341.
19. Abd El-Baky RM, Masoud SM, Mohamed DS, Waly NG, Shafik EA, Mohareb DA, et al .Prevalence and some possible mechanisms of colistin resistance among multidrug-resistant and extensively drug-resistant Pseudomonas aeruginosa. Infect Drug Resist 2020; 13: 323-32.

20. Ye H, Li Y, Li Z, Gao R, Zhang H, Wen R, et al. Diversified mcr-1-harbouring plasmid reservoirs confer resistance to colistin in human gut microbiota. mBio 2016; 7(2): e00177-16.
21. Dadashi M, Sameni F, Bostanshirin N, Yaslianifard S, Khosravi-Dehaghi N, Nasiri MJ, et al. Global prevalence and molecular epidemiology of mcr-mediated colistin resistance in Escherichia coli clinical isolates: A systematic review. J Glob Antimicrob Resist 2022; 29: 444-61.

DOI: *10.48305/jims.v40.i686.0678*

Journal of Isfahan Medical School **Vol. 40, No. 686, 2nd Week, November 2022**

Received: 30.08.2022 Accepted: 02.10.2022 Published: 05.11.2022

Resistance to Colistin and Detection of *mcr-1* Gene in Multidrug-Resistant *Pseudomonas Aeruginosa* Isolated from Wounds of the Hospitalized Burned Patients

Mahsa Moarefian[1], Farkhondeh Poursina[2], Tahmineh Narimani[2]

Original Article

Abstract

Background: The surge in antibiotic resistance, especially to colistin in multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* (MDR *P. aeruginosa*) is one of the important factors of mortality in wound infections in burn patients. The aim of this study was to investigate the prevalence of resistance to colistin as a last line treatment in MDR *P. aeruginosa* isolates from the wounds of hospitalized patients and for the detection *mcr-1* gene.

Methods: Seventy-two P. aeruginosa isolates were obtained from Imam Musa Kazem Hospitals' laboratories and confirmed using standard microbiological techniques. Antibiotic sensitivity was evaluated by the standard disk diffusion method against 8 antibiotics and minimum inhibitory concentration (MIC) of colistin was determined. The presence of *mcr-1* gene was detected using specific primers by Polymerase chain reaction (PCR) test.

Findings: Out of 72 isolates, 50 (69.44%) were identified as MDR *P. aeruginosa*, with the highest resistance to Levofloxacin (98%) and Ciprofloxacin (92%) and the lowest. Resistance was to piperacillin tazobactam (40%). Only 2% of isolates showed complete resistance to all antibiotics. Colistin resistance was detected in 14% and *mcr-1* gene in 2% of the isolates.

Conclusion: The resistance of *P. aeruginosa* to colistin (14%) among the isolates from burn infections in Isfahan and the prevalence of *mcr-1* gene (2%) in this study, shows the importance of early detection of colistin resistance, following antibiotic resistance genes and avoid recommending this drug unnecessarily to control hospital infections.

Keywords: Wound; *Pseudomonas aeruginosa*; Antibiotic resistance; Colistin; *mcr1*

Citation: Moarefian M, Poursina F, Narimani T. **Resistance to Colistin and Detection of *mcr-1* Gene in Multidrug-Resistant *Pseudomonas Aeruginosa* Isolated from Wounds of the Hospitalized Burned Patients.** J Isfahan Med Sch 2022; 40(686): 678-84.

1- Master of Medical Microbiology, Department of Bacteriology and Virology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
2- Assistant Professor, Department of Bacteriology and Virology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
Corresponding Author: Farkhondeh Poursina, Assistant Professor, Department of Bacteriology and Virology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; Email: poursina@med.mui.ac.ir