

## ***Prevalence of MDR, XDR and PDR Phenotypes among Pseudomonas aeruginosa Strains Isolated from Hospitalized Patients in Mazandaran Province, Iran***

Ghazaleh Elahi<sup>1</sup>,  
Hamid Reza Goli<sup>2</sup>,  
Maryam Salehian<sup>3</sup>,  
Mehrdad Gholami<sup>2,4</sup>

<sup>1</sup> MSc Student in Medical Microbiology, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

<sup>2</sup> Assistant Professor, Department of Microbiology and Virology, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

<sup>3</sup> MSc in Microbiology, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

<sup>4</sup> Antimicrobial Resistance Research Center, Communicable Diseases Institute, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received September 11, 2021 ; Accepted October 31, 2021)

### ***Abstract***

**Background and purpose:** *Pseudomonas aeruginosa* is an opportunistic pathogen and the second leading cause of nosocomial infections, especially in the intensive care unit (ICU), and is responsible for high mortality rates. The aim of this study was to determine the pattern of antibiotic susceptibility and prevalence of multiple drug resistance strains of *P. aeruginosa* isolated from hospitalized patients in Mazandaran province, Iran 2020.

**Materials and methods:** In this descriptive cross-sectional study, 80 strains of *P. aeruginosa* were collected from different clinical specimens. Antibiotic susceptibility of the isolates was determined by disk agar diffusion method according to the instructions of Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Finally, based on the resistance pattern, multi-drug resistant (MDR), extensive-drug resistant (XDR), and pandrug-resistant (PDR) isolates were identified.

**Results:** Out of 80 *P. aeruginosa* isolates, the highest number of samples was collected from ICU (58.75%). The highest antibiotic resistance was observed against ticarcillin-clavulanate (95%), meropenem (80%), and ceftazidime (75%). Piperacillin-tazobactam and cefpime showed the highest inhibitory effect against *P. aeruginosa* isolates with 57.5% and 51.25% sensitivity, respectively. Altogether, 88.75% and 46.25% of the isolates were categorized as MDR and XDR, respectively. In this study, PDR phenotype was not observed among our tested strains.

**Conclusion:** This study showed that *P. aeruginosa* strains are resistant to a wide range of antibiotics. Given the role of this bacterium in nosocomial infections, especially in ICU, it is necessary to take immediate measures for timely identification, definitive treatment with appropriate antibiotics, and preventing the spread of resistant strains of this bacterium.

**Keywords:** *Pseudomonas aeruginosa*, antibiotic resistance, MDR, XDR, Iran

**J Mazandaran Univ Med Sci 2021; 31 (203): 61-72 (Persian).**

\* **Corresponding Author: Mehrdad Gholami** - Antimicrobial Resistance Research Center, Communicable Diseases Institute, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran (E-mail: me.gholami@mazums.ac.ir)

## شیوع فنوتیپ های XDR، MDR و PDR در میان ایزوله های سودوموناس آئروژینوزا جدا شده از بیماران بستری در استان مازندران

غزاله الهی<sup>1</sup>حمیدرضا گلی<sup>2</sup>مریم صالحیان<sup>3</sup>مهرداد غلامی<sup>2و4</sup>

### چکیده

**سابقه و هدف:** سودوموناس آئروژینوزا یک پاتوژن فرصت طلب و دومین علت اصلی عفونت های بیمارستانی، بویژه در بخش مراقبت های ویژه (ICU) است. این مطالعه با هدف تعیین الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی و شیوع سویه های مقاوم به چند داروی سودوموناس آئروژینوزا جدا شده از بیماران بستری در مراکز آموزشی-درمانی دانشگاه علوم پزشکی مازندران در سال 1399 انجام شد.

**مواد و روش ها:** در این مطالعه توصیفی-مقطعی، 80 سویه سودوموناس آئروژینوزا از نمونه های بالینی مختلف جمع آوری شد. حساسیت آنتی بیوتیکی ایزوله ها با روش دیسک آگار دیفیوژن طبق دستورالعمل CLSI انجام شد. در نهایت براساس الگوی مقاومت به دست آمده، ایزوله های Multidrug-resistant (MDR) و Extensively drug-resistant (XDR) و Pandrug-resistant (PDR) شناسایی شدند.

**یافته ها:** از مجموع 80 ایزوله جدا شده، بیشترین نمونه از بخش ICU (58/75 درصد) جمع آوری شد. بالاترین مقاومت آنتی بیوتیکی در تیکارسیلین-کلاولونات (95 درصد)، مروپنم (80 درصد) و سفتازیدیم (75 درصد) مشاهده شد. آنتی بیوتیک های پپراسیلین-تازوباکتام و سفپیم به ترتیب با 57/5 و 51/25 درصد حساسیت، بیشترین اثر ممانعت کنندگی را از خود نشان دادند. در این میان 88/75 درصد از سویه ها MDR و 46/25 درصد از سویه ها XDR بودند. فنوتیپ PDR در میان سویه های بالینی مشاهده نشد.

**استنتاج:** نتایج نشان داد سویه های سودوموناس آئروژینوزا به طیف وسیعی از آنتی بیوتیک ها مقاوم هستند. با توجه به اهمیت این باکتری در عفونت های بیمارستانی به ویژه در بخش ICU، ضروری است اقدامات فوری جهت شناسایی به موقع و درمان قطعی با آنتی بیوتیک های مناسب انجام شود و همچنین از گسترش سویه های مقاوم این باکتری، جلوگیری به عمل آید.

**واژه های کلیدی:** سودوموناس آئروژینوزا، مقاومت آنتی بیوتیکی، MDR، XDR، ایران

### مقدمه

سودوموناس آئروژینوزا باسیل گرم منفی و متعلق به خانواده *Pseudomonadaceae*، باکتری هوازی، اکسیداز مثبت، غیر تخمیری و متحرک است که در طیف وسیعی از محیط های زنده و غیرزنده مانند خاک و آب یافت

E-mail: me.gholami@mazums.ac.ir

**مؤلف مسئول:** مهرداد غلامی - ساری: 17 کیلومتر جاده فرح آباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم، دانشکده پزشکی

1. دانشجوی کارشناسی ارشد میکروب شناسی، گروه میکروب شناسی و ویروس شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

2. استادیار، گروه میکروب شناسی و ویروس شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

3. کارشناسی ارشد میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

4. مرکز تحقیقات مقاومت های میکروبی، پژوهشکده بیماری های واگیر، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

تاریخ دریافت: 1400/6/20 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: 1400/6/22 تاریخ تصویب: 1400/8/9

به چند دارو (Multidrug-resistant; MDR) مرگ و میر را از 42 درصد به 86 درصد افزایش می‌دهند (9). درمان آنتی‌بیوتیکی به صورت تجربی برای موارد مشکوک به سودوموناس آئروژینوزا شامل مونوترایی و درمان ترکیبی است که این روش درمانی میزان مرگ و میر را در بیماران مبتلا به عفونت‌های شدید کاهش می‌دهد. علاوه بر این، استفاده بیش از حد از آنتی‌بیوتیک‌ها در طول درمان، توسعه سویه‌های مقاوم در برابر چند دارو را سرعت می‌بخشد و منجر به بی‌اثر بودن درمان تجربی علیه این میکروارگانسیم می‌شود (10). براساس برآورد مرکز پیشگیری و کنترل بیماری‌ها (CDC)، 30 درصد از آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده در بیمارستان‌ها غیرضروری بوده و یا به طور نادرست تجویز می‌شوند. همچنین 13 درصد از عفونت‌های اکتسابی از بیمارستان ناشی از سویه‌های MDR سودوموناس آئروژینوزا می‌باشد (11). در حال حاضر در کنار سویه‌های MDR، ظهور و گسترش فنوتیپ‌های Extensively Drug-resistant (XDR) و Pandrug-resistant (PDR)، به دلیل محدود کردن گزینه‌های ضد میکروبی موثر به یک چالش بزرگ تبدیل شده است و می‌تواند وضعیت درمان بیماران را با مشکلات بیش‌تری مواجه کند. از این‌رو بررسی مداوم روند مقاومت چند دارویی در ایزوله‌های بالینی این باکتری امری ضروری به نظر می‌رسد. بنابراین هدف از این مطالعه تعیین الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی و بررسی شیوع سویه‌های MDR، XDR و PDR سودوموناس آئروژینوزا جدا شده از بیماران بستری در بیمارستان‌های آموزشی - درمانی دانشگاه علوم پزشکی مازندران در سال 1399 بود.

## مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی مازندران به شماره IR.MAZUMS.REC.1399.8442 تصویب شد. در این مطالعه توصیفی - مقطعی، با توجه به مطالعه

می‌شود و باعث ایجاد بیماری در گیاهان و حیوانات و انسان می‌شود (1-3). سودوموناس آئروژینوزا یکی از اعضای گروه "ESKAPE" (گونه‌های اتروکوکوس، استافیلوکوکوس اورئوس، گونه‌های کلسیلا، اسیتوباکتر بومانی، سودوموناس آئروژینوزا و گونه‌های اتروباکتر) است. اعضای این گروه ارگانسیم‌هایی هستند که توسط انجمن بیماری‌های عفونی آمریکا به عنوان یک تهدید نگران‌کننده برای سلامت عمومی جهانی در ارتباط با مقاومت ضد میکروبی شناخته شده‌اند (4). سودوموناس آئروژینوزا شایع‌ترین کلونیزه‌کننده وسایل پزشکی (کاتتر، نیولایزر، رطوبت‌ساز) است (5). این میکروارگانسیم به عنوان یک پاتوژن فرصت طلب در نظر گرفته می‌شود و دومین علت اصلی عفونت‌های بیمارستانی به‌ویژه در بخش مراقبت‌های ویژه (ICU) است. آلودگی محیطی و انتشار مستقیم از بیماران یا کارکنان مراقبت‌های بهداشتی بیش‌ترین مخازن سودوموناس آئروژینوزا در مراکز بهداشتی محسوب می‌شوند (6,4). عفونت‌های ناشی از این میکروارگانسیم‌های مقاوم اغلب با افزایش سن، سرطان، بیماری‌های قلبی، دیابت، استفاده بی‌رویه از آنتی‌بیوتیک‌ها و اقدامات تهاجمی مانند همودیالیز، کاتتر، تراکتوستومی و سایر موارد همراه است (7).

سودوموناس آئروژینوزا باعث ایجاد طیف وسیعی از عفونت‌های حاد در بیماران بستری و افراد مبتلا به نقص ایمنی می‌شود. این عفونت‌ها شامل آندوکاردیت، عفونت‌های زخم سوختگی، باکتری می و پنومونی در بیماران فیروز سیستمیک می‌شود (1). سودوموناس آئروژینوزا در برابر بسیاری از کلاس‌های آنتی‌بیوتیکی شامل آمینوگلیکوزیدها، کارباپنم‌ها، بتالاکتام‌ها، کینولون‌ها و سفالوسپورین‌ها، مقاومت ذاتی دارد. علاوه بر این، می‌تواند ژن‌های مقاومتی جدید را از طریق انتقال افقی ژن‌ها کسب کند و به دلیل وجود مکانسیم‌های مختلف مقاومت، درمان آن دشوارتر می‌شود (8). به طوری که بیش از 75 درصد مرگ و میرهای ناشی از سوختگی مستقیماً به عفونت مربوط می‌شود و ارگانسیم‌های مقاوم

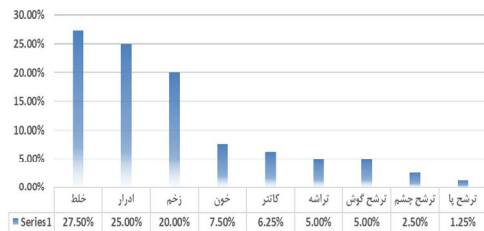
گذشته (8) و با استفاده از فرمول حجم نمونه برای محاسبه شیوع و در نظر گرفتن حداکثر خطای 0/05 امتیاز و سطح اطمینان 0/95 و نسبت 0/97، تعداد 80 ایزوله از باکتری سودوموناس آئروژینوزا از نمونه‌های بالینی ادرار، خون، زخم، خلط و ترشحات و کاتتر از بیماران بستری در بیمارستان‌های آموزشی-درمانی دانشگاه علوم پزشکی استان مازندران در سال 1399 جمع‌آوری شدند. مشخصات نمونه و بیمار، از دفتر بخش میکروبی شناسی بیمارستان جمع‌آوری شده و با سیستم ثبت مشخصات بیمار و نمونه‌ها در آزمایشگاه بیمارستان چک شده است و تمام نمونه‌های بالینی از آزمایشگاه بیمارستان دریافت شد (پلیت میکروبی و باکتری رشد کرده در محیط کشت) و سپس به آزمایشگاه میکروبی شناسی دانشکده پزشکی منتقل شد و بار دیگر توسط آزمایش‌های میکروبی شناسی و کیت مورد ارزیابی و تایید قرار گرفتند. نمونه‌های بالینی در آزمایشگاه‌های بیمارستان‌های تحت مطالعه بر روی دو محیط پایه بلاد آگار و مک کانگی آگار کشت داده شدند و پس از رشد، مجدداً پاساژ داده شدند و به آزمایشگاه گروه میکروبی شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مازندران انتقال داده شدند. پس از 24 ساعت انکوباسیون در دمای 37 درجه سانتی‌گراد، توسط آزمایش‌های میکروبی شناسی و بیوشیمیایی مربوط به شناسایی گونه سودوموناس آئروژینوزا مورد بررسی قرار گرفتند. برای اطمینان از نوع باکتری مورد نظر و بررسی دقیق‌تر، شناسایی ایزوله‌ها با تکنیک‌های میکروبی شناسی استاندارد شامل مورفولوژی و ظاهر کلونی، رنگ‌آمیزی گرم و مشاهده میکروسکوپی و تست‌های بیوشیمیایی استاندارد شامل تست اکسیداز (مثبت)، بررسی تخمیر قندها در محیط Triple Sugar Iron agar (TSI) (آلکالین/آلکالین)، بررسی حرکت (مثبت) و تولید اندول (منفی) و Hydrogen sulfide (SH<sub>2</sub>) (منفی) در محیط Sulfide Indol Motility (SIM)، بررسی سیترات (مثبت) در محیط سیمون سیترات، کشت باکتری روی

محیط نوترینت آگار و مشاهده پیگمان پیوسیانین، کشت روی محیط مک کانگی و بررسی تخمیر لاکتوز (منفی) و بلاد آگار برای بررسی همولیز باکتری، انجام شدند و تمام ایزوله‌ها به عنوان سودوموناس آئروژینوزا شناسایی و تایید شدند (12، 13). همچنین تایید نهایی ایزوله‌ها توسط کیت analytical profile index (API) (Microgen GN-ID) انجام شد. از سویه *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. ایزوله‌های تایید شده سودوموناس آئروژینوزا در محیط Tryptic Soy Broth (TSB) حاوی 30 درصد گلیسرول در دمای 80- درجه سانتی‌گراد ذخیره می‌شوند، تا در مراحل بعدی مورد استفاده قرار گیرند (6).

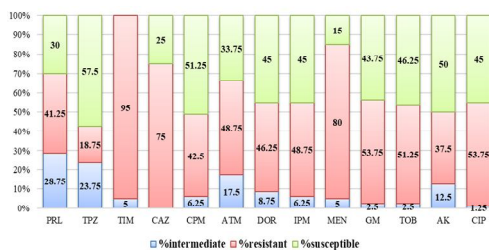
#### تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی

تست غربالگری آنتی‌بیوتیکی با روش دیسک آگار دیفیوژن برای بررسی حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزا استفاده گردید. بر اساس دستورالعمل مؤسسه استانداردهای بین‌المللی آزمایشگاه (CLSI 2020)، ابتدا محیط کشت مولر هینتون آگار تهیه شد و در پلیت‌های 10 سانتی ریخته شد. سپس از کلنی‌های تک به دست آمده از کشت 24 ساعته، سوپانسیون میکروبی معادل نیم مک‌فارلند ( $1 \times 10^8$  CFU/ml) تهیه شد و بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار (Merck, Germany)، کشت داده شد. پس از تلقیح سوپانسیون و جذب آن در محیط، دیسک‌های آنتی‌بیوتیک را با فاصله استاندارد روی محیط قرار داده، سپس پلیت‌ها در دمای 37 درجه سانتی‌گراد به مدت 18-24 ساعت انکوبه شدند و با استفاده از خط کش، قطر هاله عدم رشد اطراف هر دیسک اندازه‌گیری و نتایج مربوطه توسط جدول CLSI تفسیر شد (14، 15). جهت انجام این آزمون از دیسک‌های پیراسیلین (100-PRL میکروگرم)، پیراسیلین تازوباکتام (10/100-TPZ میکروگرم)، تیکارسیلین-کلاولونات (10/75-TIM میکروگرم)، سفنازیدیم (30-CAZ)

شامل اتاق عمل، اطفال، اورژانس، داخلی، اعصاب، انکولوژی، ترمیم، سوختگی، جراحی و گوش و حلق و بینی، هر کدام درصد ناچیزی را به خود اختصاص دادند. در این میان آلودگی در زنان، 40 درصد و در مردان، 60 درصد مشاهده شد. تفاوت معنی‌داری بین شیوع سویه‌های مقاوم سودوموناس آئروژینوزا در بین مردان و زنان مشاهده نشد ( $P>0/05$ ). بیش‌ترین ایزوله سودوموناس آئروژینوزا از نمونه خلط (27/5 درصد) جدا شد و کم‌ترین ایزوله مربوط به ترشح پا (1/25 درصد) بود (نمودار شماره 1). بیش‌ترین مقاومت باکتری به آنتی‌بیوتیک تیکارسیلین-کلاولونات (95 درصد) بوده است و بیش‌ترین حساسیت باکتری نسبت به آنتی‌بیوتیک پیراسیلین - تازوباکتام (57/5 درصد) مشاهده شد (نمودار شماره 2). همچنین در این مطالعه 88/75 درصد از سویه‌ها MDR و 46/25 درصد از سویه‌ها XDR بودند و فنوتیپ PDR در میان سویه‌های بالینی مشاهده نشد.



نمودار شماره 1: توزیع سودوموناس آئروژینوزا جدا شده از نمونه‌های مختلف بالینی



نمودار شماره 2: الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی در ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزا با روش دیسک دیفیوژن آگار

piperacillin(PRL), piperacillin-tazobactam(TPZ), ticarcillin-clavulanate (TIM), ceftazidime (CAZ), cefepime (CPM), aztreonam (ATM), doripenem (DOR), imipenem (IPM), meropenem (MEN), gentamicin (GM), tobramycin (TOB), amikacin (AK), ciprofloxacin (CIP)

میکرو گرم)، سفپیم (30-CPM میکرو گرم)، آزترونام (30-ATM میکرو گرم)، دوریپنم (10-DOR میکرو گرم)، ایمپینم (10-IPM میکرو گرم)، مروپنم (10-MEN میکرو گرم)، جنتامایسین (10-GM میکرو گرم)، توپرامایسین (10-TOB میکرو گرم)، آمیکاسین (30-AK میکرو گرم)، سیپروفلوکساسین (5-CIP میکرو گرم)، تهیه شده از شرکت (MAST, England) استفاده شد. در پایان الگوهای مقاومت به صورت مقاومت دارویی XDR، MDR و PDR به این صورت تعریف شد (16). براساس گایدلاین ارائه شده، سویه‌های MDR سودوموناس آئروژینوزا: غیرحساس به حداقل یک عامل در سه یا تعداد بیش‌تری از دسته‌های آنتی‌بیوتیکی، سویه‌های XDR غیرحساس به حداقل یک آنتی‌بیوتیک در تمامی کلاس‌های آنتی‌بیوتیکی به جز یک یا دو دسته و سویه‌های PDR غیرحساس به تمامی آنتی‌بیوتیک‌ها در تمامی کلاس‌های دارویی تعریف شدند. از اشرشیا کلسی ATCC 25922 و سودوموناس آئروژینوزا ATCC 27853 به عنوان سویه‌های استاندارد در هر ران کاری تست آنتی‌بیوگرام استفاده شد.

### آنالیز آماری داده‌ها

اطلاعات به دست آمده به کمک نرم‌افزار SPSS16 مورد تحلیل قرار گرفتند. جهت تحلیل داده‌ها از آمار توصیفی (فراوانی، درصد، میانگین) استفاده شد.

## یافته‌ها

از میان 80 ایزوله سودوموناس آئروژینوزا جمع‌آوری شده از نمونه‌های بالینی، تعداد 37 ایزوله از بیمارستان امام خمینی، 21 ایزوله از بیمارستان بوعلی سینا، 11 ایزوله از بیمارستان زارع و 11 ایزوله از بیمارستان رازی جمع‌آوری شدند. میانگین سنی بیمارانی که در این مطالعه شرکت کرده بودند 31/4 سال بود. همچنین فراوانی نسبی مردان و زنان به ترتیب شامل 59 درصد و 41 درصد بود. بیش‌ترین نمونه به دست آمده از بخش ICU به میزان 58/75 درصد بود و سایر بخش‌ها

## بحث

در میان باکتری‌های گرم منفی، سودوموناس آئروژینوزا یکی از مهم‌ترین و مشکل‌سازترین پاتوژن‌های مرتبط با عفونت‌های بیمارستانی می‌باشد. عفونت‌های ناشی از ایزوله‌های مقاوم در برابر چند دارو با طولانی‌تر شدن مدت بستری در بیمارستان، افزایش هزینه‌ها و همچنین افزایش میزان مرگ و میر همراه است و تهیه آنتی‌بیوتیک‌های جدید یا راهکارهای درمانی جایگزین برای درمان عفونت‌های مقاوم این باکتری، مورد نیاز است (2، 10).

در مطالعه حاضر از 80 نمونه کلینیکی تحت بررسی، سویه‌های جدا شده از منابع انسانی خلط (5/27 درصد)، ادرار (25 درصد) و زخم (20 درصد) به ترتیب دارای بیش‌ترین فراوانی بودند. این مقادیر مشابه مطالعه بهادر و همکارانش در بندرعباس است که با جمع‌آوری 75 نمونه بالینی، بیش‌ترین فراوانی مربوط به ادرار (5/31 درصد)، نمونه مجرای تنفسی (5/28 درصد)، زخم (20 درصد) گزارش شد که مشابه نتایج حاضر می‌باشد (8). همچنین در مطالعه مشابه دیگری که در تهران توسط مظفری و همکارانش انجام شد، بیش‌ترین فراوانی مربوط به نمونه‌های زخم و ادرار به ترتیب 1/44 درصد و 8/29 درصد بود در حالی که میزان عفونت در نمونه خلط از درصد پایین‌تری برخوردار بود (17). در مطالعه حاضر بیش‌ترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی به ترتیب مربوط به تیکارسیلین - کلانولونات (95 درصد)، مروپنم (80 درصد) و سفنازیدیم (75 درصد) بود و بیش‌ترین حساسیت به ترتیب مربوط به پیراسیلین - تازوباکتام (5/57 درصد)، سفپیم (25/51 درصد) و آمیکاسین (50 درصد) بود. در مطالعه ملکی و همکارانش در سال 2018 از 63 ایزوله سودوموناس آئروژینوزای مورد بررسی، به‌طور مشابه بیش‌ترین حساسیت به پیراسیلین - تازوباکتام مشاهده شد، اما بیش‌ترین مقاومت مربوط به دورپنم، مروپنم و ارتاپنم بود که 100 درصد گزارش شد، که در مقایسه با مطالعه حاضر مقاومت بیش‌تری مشاهده می‌شود (18). دلیل این

افزایش مقاومت می‌تواند نوع نمونه‌ها در مطالعه ملکی باشد که مطالعه روی نمونه‌های سوختگی انجام گرفته است که در مقایسه با نمونه‌های جدا شده از سایر مناطق دارای مقاومت بیش‌تری هستند. در بررسی‌های انجام شده ترکیب کاربائیم‌ها و سیپروفلوکساسین به‌عنوان داروهای انتخابی برای درمان بیماران با عفونت‌های سودوموناسی پیشنهاد شده است (19). در مطالعه ما بیش‌ترین مقاومت در کاربائیم‌ها مربوط به مروپنم به میزان 80 درصد می‌باشد که بالاترین میزان آن از نمونه‌های خلط بیماران جدا شده است و نشان می‌دهد استفاده از این آنتی‌بیوتیک در این نوع آلودگی چندان کارآمد نخواهد بود.

واعظ و همکارانش در مطالعه‌ای متآنالیز که بر روی سویه‌های مقاوم به چند داروی سودوموناس آئروژینوزا داشتند و چندین استان در ایران را مورد بررسی قرار دادند، در نتایج آن‌ها بیش‌ترین مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های سفنازیدیم و آمیکاسین، پیراسیلین - تازوباکتام به ترتیب، 50 درصد، 50 درصد و 49 درصد و کم‌ترین مقاومت نسبت به ایمپنم (31 درصد) گزارش شد که این نتایج در بیش‌تر موارد بسیار نزدیک با مطالعه حال حاضر است (20). این احتمال وجود دارد که این نتایج مشابه و نزدیک به دلیل شباهت ژنتیکی ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزا در این منطقه جغرافیایی (ایران) باشد. همچنین در مطالعاتی که در نپال و هند انجام شد، مقاومت به برخی آنتی‌بیوتیک‌ها مانند سفنازیدیم به ترتیب 4/63 درصد و 68/70 درصد گزارش شد که این میزان مقاومت، بالا و مشابه مطالعه حال حاضر است اما در کشور ترکیه این میزان کم‌تر است و 6/38 درصد گزارش شده است (12، 21، 22). در اکثر بررسی‌ها مانند مطالعاتی که در آمریکا، برزیل، هند، ترکیه و نپال انجام شده است، همانند مطالعه حاضر، کم‌ترین مقاومت نسبت به پیراسیلین - تازوباکتام مشاهده شده است که می‌توان از آن به‌عنوان گزینه درمانی مناسب در عفونت‌های سودوموناسی استفاده نمود (12، 24، 21). البته باید توجه داشت که باید به‌صورت کنترل شده مصرف شوند تا با افزایش مقاومت

مطالعه ما و 50 درصد گزارش کردند (48). سویه‌های MDR سودوموناس آئروژینوزا در مطالعات Khan و همکارانش که در بیمارستان‌های مختلف کراچی در پاکستان انجام شد 30 درصد و در مطالعه‌ای جامع در 28 بیمارستان در تایلند 20-30 درصد گزارش شد که این میزان کم‌تر از یافته‌های ما می‌باشد (49,44). همچنین این میزان در کشورهای اروپایی از 0 درصد (در استونی و ایسلند) تا 49/4 درصد (در رومانی) متغیر است. شیوع MDRPA در 16 کشور اروپایی زیر 10 درصد، در 11 کشور 10 الی 25 درصد و در سه کشور بالای 25 درصد گزارش شده است (50). از سوی دیگر میزان سویه‌های XDR در مطالعه ما 46/25 درصد بود که این میزان از مطالعه گزارش شده در نمونه‌های بالینی توسط شهرکی در زاهدان (5/5 درصد) بالاتر و از گزارش صفایی که بررسی نمونه‌های بیماران سوختگی در اصفهان است (87/5 درصد) پایین‌تر بود (51,30). این نیز نشان دهنده اهمیت ارتباط نوع نمونه‌ها و ظهور سویه‌های XDR در بیماران است. خوشبختانه در مطالعه حال حاضر فنوتیپ PDR در میان هیچ کدام از سویه‌های تحت بررسی مشاهده نشد. همچنین در مطالعات انجام شده در تهران و اصفهان نیز بطور مشابهی سویه‌های PDR سودوموناس مشاهده نشده است (53,52,30). این در حالی است که در مطالعه فاضلی و همکارانش، 50 درصد از نمونه‌های مربوط به ICU، PDR گزارش شدند (54). در مطالعه‌ای در اردبیل نیز 7 سویه PDR سودوموناس آئروژینوزا از بیمارستان‌های اردبیل شناسایی شدند که 40 درصد از آن‌ها از بخش ICU جداسازی شده بود (55). دلیل این امر می‌تواند استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های وسیع‌الطیف باشد و این به عنوان زنگ خطری برای سایر مناطق محسوب می‌شود و ظهور این سویه‌های مقاوم در سایر مناطق دور از انتظار نیست. برای اجتناب از این امر، نظارت دقیق بر استفاده صحیح از آنتی‌بیوتیک‌ها مورد نیاز است.

با توجه به مطالعه حال حاضر و مقایسه آن با مطالعات مشابه در سایر مناطق، میزان بالای مقاومت

سویه‌ها نسبت به آن مواجه نشویم. واعظ و همکارانش، نشان دادند که شیوع عفونت سودوموناس آئروژینوزا در مناطق مختلف ایران متفاوت است. در این مطالعه متاآنالیز شیوع Multidrug resistant Pseudomonas aeruginosa (MDRPA) در استان‌های مختلف ایران بطور متوسط 58 درصد تخمین زده شد (20). این در حالی است که در مطالعه حال حاضر شیوع سویه‌های MDR سودوموناس آئروژینوزا در مازندران 88/75 درصد است. بیش‌ترین میزان MDRPA در ایران در تهران 100 درصد (25) و در زاهدان 16 درصد گزارش شده است (26). بر اساس مطالعات انجام شده توسط خسروی، فرشادزاده، فرج‌زاده شیخ، شیوع سویه‌های MDR سودوموناس آئروژینوزا در اهواز به ترتیب 100، 95/1 و 44/4 درصد برآورد شده است (27-29). همچنین شیوع سویه‌های MDR سودوموناس آئروژینوزا در اصفهان به ترتیب 38، 95/8 و 32/5 درصد گزارش شده است (30-32). مطالعات انجام شده در تهران شیوع سویه‌های MDR سودوموناس آئروژینوزا را از 32 درصد تا 100 درصد گزارش کرده‌اند (25,39-33). شیوع سویه‌های MDR سودوموناس آئروژینوزا در ارومیه براساس گزارش جازانی و یوسفی به ترتیب 58 درصد و 56/3 درصد بود (41,40). همچنین فراوانی این نوع مقاومت در تبریز 68 درصد (42)، زنجان 65 درصد (43)، همدان 88/7 درصد (44) و گیلان 45/3 درصد (45)، گزارش شد. اینمیزان در دیگر شهرهای ایران مانند مطالعات بهادر و توجهی و همکارانشان به ترتیب 24/3 درصد و 27/6 درصد بود که نسبت به مطالعه حال حاضر درصد کم‌تری را به خود اختصاص دادند (46,8). همچنین در مطالعات خدایاری و پیمانی به ترتیب 59 درصد و 62 درصد از سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا نشان‌دهنده فنوتیپ MDR بودند (47,6). این تفاوت‌ها می‌تواند ناشی از تفاوت مناطق جغرافیایی، تفاوت در زمان مطالعه و تفاوت در نوع نمونه‌های جمع‌آوری شده باشد. Gill و همکارانش میزان شیوع MDRPA در بیماران بستری در ICU را به میزان مشابهی نسبت به

آئروژینوزا در این مطالعه به عنوان یک مساله مهم در بیمارستان‌ها مطرح بوده و ظهور سویه‌های دارای مقاومت چندگانه می‌تواند زنگ خطر برای گسترش سویه‌های خطرناک و مقاوم به درمان باشد. این باکتری به عنوان تهدیدی برای سلامتی بیماران بویژه در بخش ICU می‌باشد که شناسایی به موقع، درمان قطعی با آنتی‌بیوتیک مناسب می‌تواند از پیدایش و گسترش سویه‌های مقاوم پیشگیری نماید و به میزان زیادی در کاهش زمان بستری بیماران، هزینه‌ها و میزان مرگ و میر موثر باشد.

### سپاسگزاری

این مطالعه تحت حمایت معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی مازندران و با کد اخلاق IR.MAZUMS.REC.1399.901 (کمیته اخلاق در پژوهش) به تصویب رسید. همچنین از پرسنل آزمایشگاه و کارمندان بیمارستان‌های بوعلی سینا ساری، امام خمینی ساری، زارع ساری و بیمارستان رازی قائم‌شهر جهت جمع‌آوری نمونه‌های مورد مطالعه قدردانی می‌شود.

چندگانه سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا را شاهد هستیم و این میزان همواره رو به افزایش است و در صورت عدم کنترل مشکلات جدی به همراه خواهد داشت. همچنین بر اساس پیش‌بینی‌ها، در دهه‌های آینده اگر اقدامی برای رفع مشکل ظهور روز افزون مقاومت دارویی میکروبی صورت نگیرد، میزان مرگ و میر ناشی از عفونت‌های مرتبط با این باکتری‌های مقاوم به دارو، بیش از هر بیماری حاد یا مزمن دیگری، سالیانه به ده میلیون نفر تا سال 2050 خواهد رسید (56). با توجه به تنوع ژنتیکی بالا و به کارگیری مکانیسم‌های مختلف مقاومت، این میکروارگانیسم به طیف وسیعی از آنتی‌بیوتیک‌ها مقاومت نشان می‌دهد. به دلیل این گستردگی و تنوع بالا در هر منطقه، حتی در بخش‌های مختلف یک بیمارستان و در هر یک از بیماران، نمی‌توان به صورت قطعی نوع آنتی‌بیوتیک موثر در درمان را تعیین نمود. بنابراین لازم است برای هر نمونه و هر بیمار به‌طور مستقل آنتی‌بیوگرام گذاشته شود.

شیوع بالای سویه‌های MDR و XDR سودوموناس

### References

- Pang Z, Raudonis R, Glick BR, Lin T-J, Cheng Z. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and alternative therapeutic strategies. *Biotechnol Adv* 2019; 37(1): 177-192.
- Firozli DL, Pooladi M, Nowroozi J, Akhvan SA, Hooshiyar M. Presence of *exoU* and *exoS* genes in *Pseudomonas aeruginosa* isolated from urinary tract infections. *Infect Epidemiol Med* 2016; 2(2): 8-11.
- Azam MW, Khan AU. Updates on the pathogenicity status of *Pseudomonas aeruginosa*. *Drug Discov Today* 2019; 24(1): 350-359.
- Cao H, Xia T, Li Y, Xu Z, Bougouffa S, Lo YK, et al. Uncoupled Quorum Sensing Modulates the Interplay of Virulence and Resistance in a Multidrug-Resistant Clinical *Pseudomonas aeruginosa* Isolate Belonging to the MLST550 Clonal Complex. *Antimicrob Agents Chemother* 2019; 63(4): e01944-18.
- Bassetti M, Vena A, Croxatto A, Righi E, Guery B. How to manage *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Drugs Context* 2018; 7: 212527.
- Khodayary R, Nikokar I, Mobayen MR, Afrasiabi F, Araghian A, Elmi A, et al. High incidence of type III secretion system associated virulence factors (exoenzymes) in *Pseudomonas aeruginosa* isolated from Iranian burn patients. *BMC Research Notes* 2019; 12(1): 1-6.



7. Gonçalves IR, Dantas RCC, Ferreira ML, Batistão DWdF, Gontijo-Filho PP, Ribas RM. Carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: association with virulence genes and biofilm formation. *Braz J Microbiol* 2017; 48(2): 211-217.
8. Bahador N, Shoja S, Faridi F, Dozandeh-Mobarrez B, Qeshmi FI, Javadpour S, et al. Molecular detection of virulence factors and biofilm formation in *Pseudomonas aeruginosa* obtained from different clinical specimens in Bandar Abbas. *Iran J Microbiol* 2019; 11(1): 25-30
9. Vickers ML, Dulhunty JM, Ballard E, Chapman P, Muller M, Roberts JA, et al. Risk factors for multidrug-resistant Gram-negative infection in burn patients. *ANZ Journal of Surgery* 2018; 88(5): 480-485.
10. Pang ZR. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and alternative therapeutic strategies. *Biotechnol Adv* 2019; 37(1): 177-192.
11. Morehead MS, Scarbrough C. Emergence of global antibiotic resistance. *Prim Care* 2018; 45(3): 467-484.
12. Pokharel K, Dawadi BR, Bhatt CP, Gupte S. Prevalence of *Pseudomonas aeruginosa* and its antibiotic sensitivity pattern. *J Nepal Health Res Counc* 2019; 17(1): 109-113.
13. Banar M, Emaneini M, Satarzadeh M, Abdollahi N, Beigverdi R, Leeuwen WBv, et al. Evaluation of mannosidase and trypsin enzymes effects on biofilm production of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from burn wound infections. *PloS One* 2016; 11(10): e0164622.
14. Egbe CA, Ndiokwere C, Omoregie R. Microbiology of lower respiratory tract infections in Benin City, Nigeria. *Malays J Med Sci* 2011; 18(2): 27-31.
15. Prasad ASB, Shruptha P, Prabhu V, Srujan C, Nayak UY, Anuradha CKR, et al. *Pseudomonas aeruginosa* virulence proteins pseudolysin and protease IV impede cutaneous wound healing. *Lab Invest* 2020; 100(12): 1532-1550.
16. Magiorakos A-P, Srinivasan A, Carey Rt, Carmeli Y, Falagas Mt, Giske Ct, 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): 268-281.
17. Habibi A, Amir Mozafari N, Fallah Mehrbadi J, Kazemi Darsanky R. The frequency and antibiotic resistance modeling in clinical strains of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from different parts of Tehran hospitals. *RJMS* 2016; 23(146): 10-16.
18. Maleki F, Tahmasebi H, Zandi M, Arabestani MR. Investigation of the Relationship between the Presence of Genes Producing Toxin and Antibiotic Resistance Pattern in *Pseudomonas aeruginosa* Strains Isolated from Burn Wounds. *Avicenna Journal of Clinical Medicine* 2018; 25(2): 112-120.
19. Innes ME, Umraw N, Fish JS, Gomez M, Cartotto RC. The use of silver coated dressings on donor site wounds: a prospective, controlled matched pair study. *Burns* 2001; 27(6): 621-627.
20. Vaez H, Salehi-Abargouei A, Ghalehnoo ZR, Khademi F. Multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa* in Iran: A systematic review and metaanalysis. *J Glob Infect Dis* 2018; 10(4): 212-217.
21. Biswal I, Arora BS, Dimple Kasana N. Incidence of multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolated from burn patients and environment of teaching institution. *Journal*

- of clinical and diagnostic research. *J Clin Diagn Res* 2014; 8(5): DC26-29.
22. Acar A, Karaahmetoğlu G, Akalın H, Altay AF. Pooled prevalence and trends of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates over the past 10 years in Turkey: a meta-analysis. *J Glob Antimicrob Resist* 2019; 18: 64-70.
  23. Ribeiro ÁCdS, Crozatti MTL, Silva AAd, Macedo RS, Machado AMdO, Silva ATdA. *Pseudomonas aeruginosa* in the ICU: prevalence, resistance profile, and antimicrobial consumption. *Rev Soc Bras Med Trop* 2020; 53: e20180498.
  24. Puzniak L, DePestel DD, Srinivasan A, Ye G, Murray J, Merchant S, et al. A combination antibiogram evaluation for *Pseudomonas aeruginosa* in respiratory and blood sources from intensive care unit (ICU) and non-ICU settings in US hospitals. *Antimicrob Agents Chemother* 2019; 63(4): e02564-18.
  25. Moazami Goudarzi S, Eftekhari F. Assessment of carbapenem susceptibility and multidrug-resistance in *Pseudomonas aeruginosa* burn isolates in Tehran. *Jundishapur J Microbiol* 2013; 6(2): 162-165.
  26. Bokaeian M, Zahedani SS, Bajgiran MS, Moghaddam AA. Frequency of PER, VEB, SHV, TEM and CTX-M genes in resistant strains of *Pseudomonas aeruginosa* producing extended spectrum  $\beta$ -lactamases. *Jundishapur J Microbiol* 2015; 8(1): e13783.
  27. Khosravi AD, Motahar M, Abbasi Montazeri E. The frequency of class 1 and 2 integrons in *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from burn patients in a burn center of Ahvaz, Iran. *PloS One* 2017; 12(8): e0183061.
  28. Farshadzadeh Z, Khosravi AD, Alavi SM, Parhizgari N, Hoveizavi H. Spread of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase genes of bla OXA-10, bla PER-1 and bla CTX-M in *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from burn patients. *Burns* 2014; 40(8): 1575-1580.
  29. Sheikh AF, Rostami S, Jolodar A, Tabatabaiefar MA, Khorvash F, Saki A, et al. Detection of metallo-beta lactamases among carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Jundishapur J Microbiol* 2014; 7(11): e12289.
  30. Safaei HG, Moghim S, Isfahani BN, Fazeli H, Poursina F, Yadegari S, et al. Distribution of the strains of multidrug-resistant, extensively drug-resistant, and pandrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates from burn patients. *Adv Biomed Res* 2017; 6: 74.
  31. Radan M, Moniri R, Khorshidi A, Gilasi H, Norouzi Z, Beigi F, et al. Emerging carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates carrying bla<sub>IMP</sub> among burn patients in Isfahan, Iran. *Arch Trauma Res* 2016; 5(3): e33664.
  32. Tavajjohi Z, Moniri R, Khorshidi A. Detection and characterization of multidrug resistance and extended-spectrum-beta-lactamase-producing (ESBLs) *Pseudomonas aeruginosa* isolates in teaching hospital. *Afr J Microbiol Res* 2011; 5(20): 3223-3228.
  33. Jafari M, Fallah F, Borhan RS, Navidinia M, Karimi A, Rafii Ts, et al. The first report of CMY, aac (6)-Ib and 16S rRNA methylase genes among *Pseudomonas aeruginosa* isolates from Iran. *Archives of Pediatric Infectious Diseases* 2013; 2(2): 109-112.
  34. Kashfi M, Hashemi A, Eslami G, Sadredin Amin M, Tarashi S, Taki E. The prevalence of aminoglycoside-modifying enzyme genes among *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from burn patients. *Arch Clin Infect Dis* 2017; 12(1): e40896.
  35. Corehtash ZG, Khorshidi A, Firooeh F, Akbari H, Aznaveh AM. Biofilm formation and

- virulence factors among *Pseudomonas aeruginosa* isolated from burn patients. *Jundishapur J Microbiol* 2015; 8(10): e22345.
36. Talebi-Taher M, Majidpour A, Gholami A, Rasouli-Kouhi S, Adabi M. Role of efflux pump inhibitor in decreasing antibiotic cross-resistance of *Pseudomonas aeruginosa* in a burn hospital in Iran. *J Infect Dev Ctries* 2016; 10(6): 600-604.
  37. Goudarzi SM, Eftekhari F. Multidrug resistance and integron carriage in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* in Tehran, Iran. *Turk J Med Sci* 2015; 45(4): 789-793.
  38. Azami S, Abdi AA, Asgarani E. Association between metallo- $\beta$ -lactamases and integrons with multi-drug resistance in *Pseudomonas aeruginosa* isolates 2013; 1(1): 46-51.
  39. Salimi H, Yakhchali B, Owlia P, Lari AR. Molecular epidemiology and drug susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from burn patients. *Lab Med* 2010; 41(9): 540-544.
  40. Jazani NH, Zahedi A. Phenotypic detection of metallo-lactamase producing *Pseudomonas aeruginosa* isolated from Urmia hospitals. *Afr J Microbiol Res* 2012; 6(13): 3106-3111.
  41. Yousefi S, Nahaei M, Farajnia S, Ghojzadeh M, Akhi M, Sharifi Y, et al. Class 1 integron and imipenem resistance in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*: prevalence and antibiotic susceptibility. *Iranian J Microbiol* 2010; 2(3): 115-121
  42. Goli HR, Nahaei MR, Rezaee MA, Hasani A, Kafil HS, Aghazadeh M. Emergence of colistin resistant *Pseudomonas aeruginosa* at Tabriz hospitals, Iran. *Iranian J Microbiol* 2016; 8(1): 62-69.
  43. Hemmati F, Soroori Zanjani R, Haghi F, Zeighami H. Determination of Antibiotic Resistance Profile and Frequency of Metallo-Beta-Lactamases in *Pseudomonas Aeruginosa* Isolates. *J Adv Med Biomed Res* 2014; 22(93): 77-85.
  44. Alikhani MY, Tabar ZK, Mihani F, Kalantar E, Karami P, Sadeghi M, et al. Antimicrobial resistance patterns and prevalence of blaPER-1 and blaVEB-1 genes among ESBL-producing *Pseudomonas aeruginosa* isolates in West of Iran. *Jundishapur J Microbiol* 2014; 7(1): e8888.
  45. Nikokar I, Tishayar A, Flakiyan Z, Alijani K, Rehana-Banisaeed S, Hossinpour M, et al. Antibiotic resistance and frequency of class 1 integrons among *Pseudomonas aeruginosa*, isolated from burn patients in Guilan, Iran. *Iran J Microbiol* 2013; 5(1): 36-41.
  46. Tavajjohi Z, Moniri R, Khoeshidi A. Frequency of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) multidrug-resistance produced by *Pseudomonas aeruginosa* isolated from clinical and environmental specimens in Kashan Shahid Beheshti hospital during 2010-11. *FEYZ* 2011; 15(2): 139-145.
  47. Peymani A, Naserpour Farivar T, Rahimi H, Ranjbar M, Najafipour R. Frequency of class I integron among multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates from the selected hospitals in Qazvin and Tehran, Iran. *Qom Univ Med Sci J* 2014; 8(3): 61-69 (Persian).
  48. Gill J, Arora S, Khanna S, Kumar KH. Prevalence of multidrug-resistant, extensively drug-resistant, and pandrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* from a tertiary level intensive care unit. *J Glob Infect Dis* 2016; 8(4): 155-159.
  49. Suwantarant N, Carroll KC. Epidemiology and molecular characterization of multidrug-resistant Gram-negative bacteria in Southeast Asia. *Antimicrob Resist Infect Control* 2016; 5: 15.

50. Prevention ECfD, Control. Surveillance of antimicrobial resistance in Europe 2017. European Centre for Disease Prevention and Control. Stockholm: ECDC; 2018.
51. Shahraki Zahedani S, Jahantigh M, Amini Y. Determining a pattern for antibiotic resistance in clinical isolations of pseudomonas aeruginosa. *Tehran Univ Med J* 2018; 76(8): 517-522.
52. Saderi H, Owlia P. Detection of multidrug resistant (MDR) and extremely drug resistant (XDR) *P. aeruginosa* isolated from patients in Tehran, Iran. *Iranian J Pathol* 2015; 10(4): 265-271
53. Nasirmoghadas P, Yadegari S, Moghim S, Esfahani BN, Fazeli H, Poursina F, et al. Evaluation of biofilm formation and frequency of multidrug-resistant and extended drug-resistant strain in *Pseudomonas aeruginosa* isolated from burn patients in Isfahan. *Adv Biomed Res* 2018; 7: 61.
54. Fazeli H, Havaei SA, Solgi H, Shokri D, Motallebirad T. Pattern of antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* isolated from intensive care unit, isfahan, Iran. *J Isfahan Medical School* 2013; 31(232): 433-438.
55. Bazghandi SA, Safarirad S, Arzanlou M, Peeri-Dogaheh H, Ali-Mohammadi H, Khademi F. Prevalence of Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* Strains in Ardabil. *J Ardabil Univ Med Sci* 2020; 20(2): 280-286 (Persian).
56. Hoffman SJ, Outterson K, Røttingen J-A, Cars O, Clift C, Rizvi Z, et al. An international legal framework to address antimicrobial resistance. *Bull World Health Organ* 2015; 93(2): 66.