

Brief Report

Prevalence of Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* Strains in Ardabil

Bazghandi SA, Safarirad S, Arzanlou M, Peeri-Dogaheh H, Ali-Mohammadi H, Khademi F*

Department of Microbiology, School of Medicine, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran

* **Corresponding author.** Tel: +98 45 33534684; Fax: +98 45 33534684, E-mail: k_farzad@yahoo.com, f.khademi@arums.ac.ir

Received: Aug 26, 2020

Accepted: Dec 20, 2020

ABSTRACT

Background & objectives: Bacterial antibiotic resistance is becoming a global health crisis. The aim of this descriptive, cross-sectional study was to investigate the prevalence of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strains in Ardabil.

Methods: During 9 months, between July 2019 and March 2020, 50 strains of *Pseudomonas aeruginosa* were collected from different clinical specimens in four hospitals of Ardabil and the prevalence of MDR, XDR and PDR strains of *Pseudomonas aeruginosa* were evaluated. Antibiotic susceptibility testing was assessed using the disk diffusion method.

Results: In the present study, the prevalence of MDR, XDR and PDR strains of *Pseudomonas aeruginosa* were 52%, 40% and 14%, respectively.

Conclusion: Due to high prevalence of multidrug-resistant strains of *Pseudomonas aeruginosa* in Ardabil, continuous monitoring of the antibiotic resistance trend in clinical isolates in order to select the best medication is necessary.

Keywords: *Pseudomonas aeruginosa*; Multidrug Resistance; Antibiotic

گزارش کوتاه

شیوع سویه‌های سودوموناس آئروژینوزای مقاوم به چند دارو در اردبیل

سیدعلی بازقندی، سمیه صفری راد، محسن ارزنلو، هادی پیری دوگانه، حسین علی محمدی، فرزاد خادمی *

گروه میکروب شناسی، انکل شناسی و ایمنی شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران

* نویسنده مسئول. تلفن: ۰۴۵۳۳۵۳۴۶۸۴ فاکس: ۰۴۵۳۳۵۳۴۶۸۴

پست الکترونیک: k_farzad@yahoo.com k.khademi@arums.ac.ir

چکیده

زمینه و هدف: مقاومت آنتی بیوتیکی باکتریایی در حال تبدیل شدن به یک بحران بهداشت عمومی در جهان است. هدف از این مطالعه توصیفی-مقطعی، بررسی شیوع سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا مقاوم به چند دارو در اردبیل بود.

روش کار: در طول ۹ ماه، بین تیر تا اسفند سال ۱۳۹۸، تعداد ۵۰ سویه سودوموناس آئروژینوزا از نمونه‌های مختلف بالینی در چهار بیمارستان اردبیل جمع‌آوری و شیوع سویه‌های MDR، XDR و PDR سودوموناس آئروژینوزا بررسی شد. ارزیابی مقاومت آنتی بیوتیکی باکتری با استفاده از روش دیسک دیفیوژن بود.

یافته‌ها: در مطالعه حاضر، شیوع سویه‌های MDR، XDR و PDR سودوموناس آئروژینوزا به ترتیب ۵۲، ۴۰ و ۱۴ درصد بود.

نتیجه گیری: با توجه به شیوع بالای سویه‌های مقاوم به چند دارو سودوموناس آئروژینوزا در اردبیل، نظارت مداوم بر روند مقاومت آنتی بیوتیکی ایزوله‌های بالینی این باکتری به منظور انتخاب بهترین گزینه دارویی برای جلوگیری از شکست درمان ضروری است.

واژه‌های کلیدی: سودوموناس آئروژینوزا، مقاومت چند دارویی، آنتی بیوتیک

پذیرش: ۱۳۹۹/۹/۳۰

دریافت: ۱۳۹۹/۶/۵

مقدمه

غیرضروری بوده و یا به طور نادرست تجویز می‌شوند. اهمیت پیدایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی از آنجایی است که عفونت‌های ناشی از باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک باعث بیش از ۲ میلیون بیماری و نیز مرگ و میر سالانه ۲۳۰۰۰ نفر در ایالات متحده و ۲۵۰۰۰ نفر در کشورهای اروپایی شده‌اند [۱-۴]. در بین باکتری‌های گرم منفی مقاوم به آنتی‌بیوتیک، سودوموناس آئروژینوزا^۱، یک باسیل گرم منفی، کاتالاز و اکسیداز مثبت و غیرتخمیری، یکی از

مقاومت آنتی‌بیوتیکی یک پدیده نو ظهور در جهان بوده و در حال تبدیل شدن به یک بحران بهداشت عمومی مخصوصاً در کشورهای در حال توسعه است. استفاده بیش از حد و یا سوء مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها در بخش‌های انسانی و همچنین در عرصه‌های پرورش دام و طیور، مواد غذایی و کشاورزی به معضل فعلی دامن زده است. بر اساس برآورد مرکز پیشگیری و کنترل بیماری‌ها (CDC)، ۳۰ درصد از آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده در بیمارستان‌ها

¹ *Pseudomonas aeruginosa*

شایعترین و مهمترین پاتوژن‌های فرصت طلب ایجادکننده عفونت‌های بیمارستانی محسوب می‌شود. این باکتری در حالی توسط CDC بعنوان تهدید جدی علیه بهداشت جهانی تلقی شده است که سالانه بیش از ۵۰۰۰۰ مورد عفونت ایجاد کرده و ۸ درصد از کل عفونت‌های اکتسابی از بیمارستان را شامل می‌شود [۱]. این باکتری تقریباً می‌تواند تمام بافت‌های بدن انسان را آلوده کرده و با طیف گسترده‌ای از عفونت‌های حاد و مزمن، از قبیل پنومونیه، عفونت مجاری ادراری، مننژیت و عفونت‌های خون، پوست، گوش و چشم، بخصوص در بیماران حساس مثل مبتلایان به فیروز سیستمیک (CF) و بیماران دچار سوختگی مرتبط می‌باشد [۸-۵]. با توجه به اینکه ۱۳ درصد از عفونت‌های اکتسابی از بیمارستان ناشی از سویه‌های مقاوم به چندین دارو^۱ (MDR) سودوموناس آئروژینوزا می‌باشد، بررسی روند مقاومت چنددارویی در ایزوله‌های بالینی این باکتری ضروری به نظر می‌رسد [۱]. بنابراین، هدف از این مطالعه توصیفی-مقطعی، بررسی شیوع سویه‌های MDR، XDR و PDR سودوموناس آئروژینوزا برای اولین بار در اردبیل بود.

روش کار

پس از تصویب طرح در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی اردبیل به شماره IR.ARUMS.REC.1398.386، در طول ۹ ماه، بین تیر تا اسفند سال ۱۳۹۸، نمونه‌های مشکوک به حضور سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا از نمونه‌های بالینی مختلف و از بخش‌های مختلف چهار بیمارستان آموزشی اردبیل جمع‌آوری و به آزمایشگاه تحقیقاتی بخش میکروب شناسی دانشگاه علوم پزشکی اردبیل انتقال داده شدند. برای تشخیص سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا، نمونه‌های بالینی روی محیط کشت انتخابی سیتریمید آگار

(Conda, Pronasida, Spain) کشت مجدد شدند و کلنی‌های رشد کرده، بعد از ۲۴ ساعت، با استفاده از تست‌های فنوتیپی، مثل مورفولوژی و پیگمان سبز کلنی، کاتالاز، اکسیداز و اکسیداسیون-فرمانتاسیون، و نیز ژنوتیپی، با استفاده از پرایمرهای اختصاصی گونه،
F: TCCAAACAATCGTCGAAAGC
R: CCGAAAATTCGCGCTTGAAC

بعنوان سودوموناس آئروژینوزا شناسایی شدند. تمامی نمونه‌ها پس از تشخیص و تایید نهایی در محیط تریپتیکس سوی برات (TSB) (Quelab, Canada) حاوی ۲۰٪ گلیسرول جهت انجام تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شدند. بر طبق دستورالعمل CLSI 2018^۲، از روش دیسک دیفیوژن برای تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا استفاده شد. برای انجام تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی، سوپانسیون باکتری با کدورت نیم مک فارلند (1.5×10^8 cfu/ml) آماده و با استفاده از سواب بصورت چمنی در محیط کشت مولر هینتون آگار (Conda, Pronasida, Spain) کشت داده شد. در نهایت، دیسک‌های مختلف آنتی‌بیوتیک روی سطح محیط قرار داده شدند و بعد از ۱۶ تا ۱۸ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد، قطر هاله عدم رشد ارزیابی شد. کلاس‌های مختلف آنتی‌بیوتیکی تست شده، که توسط CLSI برای سنجش حساسیت دارویی این باکتری پیشنهاد شده‌اند، عبارتند از: پنی‌سیلین‌ها (پپراسیلین 100 µg)، ترکیب آنتی‌بیوتیک بتا-لاکتام/مهارکننده بتا-لاکتاماز (پپراسیلین/تازوباکتام 100/10 µg و تیکارسیلین/کلاوولانات 75/10 µg)، سفالوسپورین‌ها (سفتازیدیم 30 µg و سفپیم 30 µg)، منوباکتام‌ها (آزترئونام 30 µg)، کارباپنم‌ها (ایمپنم 10 µg، مروپنم 10 µg و دوریپنم 10 µg)، آمینو گلیکوزیدها (جتامایسین 10 µg، آمیکاسین 30 µg و توبرامایسین

² The Clinical and Laboratory Standards Institute

¹ Multidrug-resistant *P. aeruginosa*

فراوانی سویه‌های مقاوم در نمونه خلط ۱۶/۶ درصد، نمونه خون ۸/۳ درصد و نمونه زخم ۸/۳ درصد بود. همچنین شیوع این سویه‌های مقاوم در بخش‌های مختلف بیمارستان‌های اردبیل بدین ترتیب بود: مراقبت‌های ویژه ۴۰ درصد، داخلی ۲۸ درصد، اورژانس ۲۰ درصد، اطفال ۸ درصد و قلب ۴ درصد. شیوع سویه‌های XDR، MDR و PDR سودوموناس آئروژینوزا در زنان با میانگین سنی $51/7 \pm 5/1$ بیشتر از مردان با میانگین سنی $52/1 \pm 7/3$ بود (۵۶٪ در مقابل ۴۴٪). با این حال، تفاوت معنی‌داری بین شیوع سویه‌های مقاوم سودوموناس آئروژینوزا در زنان و مردان مشاهده نشد ($p=0/21$).

بحث

تکثیر و گسترش ارگانسیم‌های مقاوم به دارو، درمان را پرمخاطره، پرهزینه و گاهی فاقد اثر می‌کند. در مقایسه با عفونت‌های حساس به دارو، عفونت‌های مقاوم مدت زمان بستری شدن در بیمارستان، مرگ و میر و هزینه‌ها را دو برابر می‌کنند [۱۰]. درمان عفونت‌های سودوموناس آئروژینوزا نیز به دلیل توانایی ذاتی، اکتسابی و انطباقی باکتری در مقاومت در برابر بسیاری از کلاس‌های آنتی‌بیوتیکی به سختی قابل انجام است. حتی با وجود استفاده از درمان‌های ترکیبی، میزان مقاومت دارویی این باکتری در حال افزایش است [۱۱]. در این میان، شیوع سویه‌های مقاوم به چند دارو، XDR، MDR و PDR، می‌تواند وضعیت درمان را مشکل‌تر کند. بر اساس یک مطالعه متآنالیز، متوسط شیوع سویه‌های MDR سودوموناس آئروژینوزا در ایران ۵۸ درصد می‌باشد [۱۲]. مطالعه حاضر اولین گزارش ارائه شده درباره شیوع مقاومت چند دارویی سودوموناس آئروژینوزا در اردبیل می‌باشد. میزان شیوع سویه‌های MDR در این مطالعه ۵۲ درصد بود [۱۲]. بر اساس مطالعات انجام شده توسط خسروی، فرشادزاده و فرج زاده شیخ، شیوع سویه‌های MDR سودوموناس

($10\mu\text{g}$) و فلوروکینولون‌ها (سیپروفلوکساسین $5\mu\text{g}$ ، افلوکساسین $5\mu\text{g}$ ، نورفلوکساسین $10\mu\text{g}$ ، لومفلوکساسین $10\mu\text{g}$ و لووفلوکساسین $5\mu\text{g}$) (پادتن طب، ایران). تعاریف مختلفی برای توصیف الگوهای مقاومت MDR، XDR^۱ و PDR^۲ در باکتری‌ها در منابع پزشکی وجود دارد. در این مطالعه از تعاریف ارائه شده توسط CDC و نیز مرکز اروپایی پیشگیری و کنترل بیماری‌ها (ECDC) برای دسته‌بندی سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا بعنوان سویه‌های XDR، MDR و PDR استفاده شد. بر این اساس، سویه‌های MDR سودوموناس آئروژینوزا غیرحساس به حداقل یک آنتی‌بیوتیک در ۳ کلاس آنتی‌بیوتیکی یا بیشتر، سویه‌های XDR غیرحساس به حداقل یک آنتی‌بیوتیک در همه کلاس‌های آنتی‌بیوتیکی بجز ۲ کلاس و یا کمتر و سویه‌های PDR غیرحساس به همه آنتی‌بیوتیک‌ها در همه کلاس‌های آنتی‌بیوتیکی تعریف شدند [۹]. از سویه استاندارد سودوموناس آئروژینوزا ATCC 27853 برای کنترل کیفیت دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی استفاده شد. داده‌ها با استفاده از نسخه ۳ نرم افزار GraphPad InStat تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

در این مطالعه توصیفی-مقطعی که در یک بازه زمانی ۹ ماهه انجام پذیرفت، تعداد ۵۰ ایزوله سودوموناس آئروژینوزا از نمونه‌های ادرار، خون، خلط و زخم جداسازی و مقاومت همزمان این باکتری‌ها به چندین آنتی‌بیوتیک مورد ارزیابی قرار گرفت. بر اساس نتایج دیسک دیفیوژن، در این مطالعه شیوع سویه‌های XDR، MDR و PDR سودوموناس آئروژینوزا به ترتیب ۵۲، ۴۰ و ۱۴ درصد بود. فراوانی سویه‌های XDR، MDR و PDR سودوموناس آئروژینوزا در نمونه‌های ادرار (۶۶/۶٪) بالاتر از سایر نمونه‌ها بود.

¹ Extremely Drug-resistant *P. aeruginosa*

² Pandrug-resistant *P. aeruginosa*

(۴۰٪) از مطالعات گزارش شده توسط صادری در تهران (۳۳٪) بالاتر و از گزارش نصیر مقدس در اصفهان پایین‌تر (۸۵٪) بود [۱۳، ۱۴]. نکته هشداردهنده در این مطالعه شناسایی ۷ سویه PDR سودوموناس آئروژینوزا از بیمارستان‌های اردبیل بود. ۴۰ درصد از این سویه‌ها از بخش مراقبت‌های ویژه جداسازی شده بودند. این درحالی است که در مطالعات انجام شده توسط صادری در تهران و نصیر مقدس در اصفهان شیوع PDR سودوموناس آئروژینوزا مشاهده نشده است [۱۳، ۱۴]. بر اساس پیش‌بینی‌ها، در دهه‌های آینده اگر اقدامی برای رفع مشکل ظهور روزافزون 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 ۱۰ میلیون نفر تا سال ۲۰۵۰ خواهد رسید [۱۵]. با توجه به بالا بودن مقاومت همزمان این باکتری به چند دارو و از آنجائی که تعداد کمی داروی جدید برای مقابله با عفونت‌های سودوموناس آئروژینوزا در دسترس می‌باشد، بازگشت اجباری به استفاده از آنتی‌بیوتیک‌هایی مانند پلی میکسین‌ها، که بدلیل داشتن عوارض جانبی سمی توصیه نمی‌شوند، دور از ذهن نخواهد بود [۱۱]. اخیراً، بر اساس دستورالعمل CLSI (2018)، کاربرد روش دیسک دیفیوژن برای تعیین حساسیت سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا به آنتی‌بیوتیک‌های لیپوپتیدی (پلی میکسین B و کلیستین) توصیه نمی‌شود [۱۶]. لکن، بر اساس روش دیسک دیفیوژن، در این مطالعه، تمامی سویه‌های PDR به این آنتی‌بیوتیک‌ها حساس بودند. این نشان می‌دهد که این آنتی‌بیوتیک‌ها احتمالاً جایگزین مناسبی برای درمان عفونت‌های ناشی از سویه‌های PDR سودوموناس آئروژینوزا باشند. در نهایت، عدم دسترسی به دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی سفتازیدیم/آویباکتام، سففتولوزان/تازوباکتام و گاتیفلوکساسین، توصیه شده توسط CLSI، از جمله

آئروژینوزا در اهواز به ترتیب ۱۰۰/۱، ۹۵/۱ و ۴۴/۴ درصد برآورد شده است [۱۲]. صفایی و همکاران شیوع سویه‌های MDR سودوموناس آئروژینوزا در اصفهان را به ترتیب ۹۵/۵، ۳۸ و ۳۲/۵ درصد گزارش کرده‌اند [۱۲]. مطالعات تعدادی از محققین در تهران نشان داده شیوع سویه‌های MDR سودوموناس آئروژینوزا بدین ترتیب می‌باشد: گودرزی (۱۰۰٪)، جعفری (۱۰۰٪)، کشفی (۹۳/۳٪)، قنبرزاده (۹۳/۱٪)، طالبی (۸۹٪)، معظمی (۷۴/۱٪)، اعظمی (۵۳/۸٪) و سلیمی (۳۲/۶٪) [۱۲]. شیوع سویه‌های MDR سودوموناس آئروژینوزا در ارومیه بر اساس گزارش جازانی و یوسفی به ترتیب ۵۸ درصد و ۵۶/۳ درصد بود [۱۲]. همچنین فراوانی این نوع مقاومت در شهرهای تبریز ۶۸، زنجان ۶۵، زاهدان ۱۶/۴، همدان ۸۸/۷ و گیلان ۴۵/۳ درصد می‌باشد [۱۲]. سودوموناس آئروژینوزا علاوه بر داشتن فاکتورهای ویروولانس متعدد، دارای مکانیسم‌های مختلف مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها مثل بیان ایفلاکس پمپ‌ها (مقاومت ذاتی)، نفوذناپذیری غشای خارجی (مقاومت ذاتی)، حضور آنزیم‌های بتا-لاکتاماز (مقاومت ذاتی)، موتاسیون در جایگاه هدف آنتی‌بیوتیک‌ها (مقاومت اکتسابی)، اکتساب ژن‌های مقاومت (مقاومت اکتسابی)، تغییر پروتئین‌های غشا (مقاومت انطباقی) و تشکیل بیوفیلم (مقاومت انطباقی) می‌باشد. هر یک از این مکانیسم‌های مقاومت می‌توانند یکی از دلایل شیوع بالای سویه‌های MDR و XDR سودوموناس آئروژینوزا در اردبیل باشند [۱۱، ۱]. با این حال، مکانیسم‌های مقاومت باکتری به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف در این شهر بررسی نشده‌اند. البته فاکتورهای دیگری که منجر به افزایش مقاومت باکتری در برابر آنتی‌بیوتیک می‌شوند عبارتند از: استفاده بیش از حد و همچنین استفاده نامناسب (انتخاب نوع دارو، دوز دارو، پایبندی بیمار به مصرف صحیح دارو) از آنتی‌بیوتیک‌ها در موارد انسانی، دامی و صنایع غذایی [۱]. از طرف دیگر، سویه‌های XDR در این مطالعه

داروهای مختلف، و در نهایت، طراحی و راه‌اندازی یک پایگاه جامع اطلاعات مقاومت دارویی به منظور پایش مستمر روند مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های بالینی باکتری، بخصوص سویه‌های MDR، XDR و PDR، در شهرهای مختلف استان.

تشکر و قدردانی

این مقاله منتج از پایان نامه کارشناسی ارشد سید علی بازقندی (کد سند: ۲۸۷۷) می‌باشد. نویسندگان مراتب تشکر و قدردانی خود را از همکاری کارکنان محترم آزمایشگاه در کلیه بیمارستان‌های تحت پوشش دانشگاه علوم پزشکی اردبیل اعلام می‌دارند.

مهمترین محدودیت‌های مطالعه حاضر بود که ممکن است روی نتایج شیوع سویه‌های مقاوم سودوموناس آئروژینوزا تاثیر گذار باشد.

نتیجه گیری

با توجه به شیوع بالای سویه‌های MDR، XDR و PDR در اردبیل، اقداماتی که برای کاهش روند مقاومت دارویی سودوموناس آئروژینوزا پیشنهاد می‌شوند عبارتند از: توقف استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در مزارع، دامداری‌ها و صنایع غذایی، اجتناب از مصرف نابجا یا خودسرانه آنتی‌بیوتیک‌ها، تجویز مناسب آنتی‌بیوتیک‌ها بر اساس تست‌های حساسیت دارویی و نیز تعیین مکانیسم‌های مقاومت باکتری به

References

- 1- Morehead MS, Scarbrough C. Emergence of global antibiotic resistance. Prim Care. 2018 Sep; 45(3):467-84.
- 2- Centers for Disease Control and Prevention. Antibiotic use in the United States: progress and opportunities. 2017. Available at: <https://www.cdc.gov/antibioticuse/stewardship-report/pdf/stewardship-report.pdf>. Accessed February 5, 2018.
- 3- Centers for Disease Control and Prevention. Antibiotic resistance threats in the United States. 2013. Available at: <https://www.cdc.gov/drugresistance/threatreport-2013/pdf/ar-threats-2013-508.pdf>. Accessed January 10, 2018.
- 4- European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). Antimicrobial resistance in focus. Available at: <https://ecdc.europa.eu/en/antimicrobial-resistance>. Accessed March 12, 2018.
- 5- Vaez H, Salehi-Abargouei A, Khademi F. Systematic review and meta-analysis of imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* prevalence in Iran. Germs. 2017 Jun;7(2):86-97.
- 6- Vaez H, Vaez V, Khademi F. Effect of mutation in efflux pump regulatory protein (MexR) of *Pseudomonas aeruginosa*: a bioinformatic study. Med Lab J. 2017 Nov; 11(6): 35-41.
- 7- Vaez H, Khademi F, Salehi-Abargouei A, Sahebkar A. Metallo-beta-Lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* in Iran: a systematic review and meta-analysis. Infez med. 2018 Sep;26(3): 216-25.
- 8- Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Medical microbiology. 8th ed. UK: Elsevier Health Sciences; 2015, p. 272-279.
- 9- 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 Mar;18(3):268-81.
- 10- Levy SB, Marshall B. Antibacterial resistance worldwide: causes, challenges and responses. Nat Med. 2004 Dec;10(12): S122-9.
- 11- Gellatly SL, Hancock RE. *Pseudomonas aeruginosa*: new insights into pathogenesis and host defenses. Pathog Dis. 2013 Apr;67(3): 159-73.
- 12- Vaez H, Salehi-Abargouei A, Ghalehnoo ZR, Khademi F. Multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa* in Iran: A systematic review and meta-analysis. J Global Infect Dis. 2018 Oct;10: 12-7.
- 13- Saderi H, Owlia P. Detection of Multidrug Resistant (MDR) and Extremely Drug Resistant (XDR) *P. aeruginosa* Isolated from Patients in Tehran, Iran. Iran J Pathol. 2015; 10(4): 265-271.

- 14- 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 Apr;7: 61.
- 15- Hoffman SJ, Outtersen K, Røttingen JA, Cars O, Clift C, Rizvi Z, et al. An international legal framework to address antimicrobial resistance. *Bull World Health Organ*. 2016 Feb; 93(2):66.
- 16- CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Twenty-eighth informational supplement. CLSI document M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018.