



مقاله های پژوهشی

- ۲۰۰۴ بررسی اثر عصاره‌ی منتخبی از مخروطیان بومی ایران بر رده‌ی سلولی سرطان پستان انسان (MCF-7) به روش فلوسایتومتري
 دکتر علیرضا عندلیب، دکتر عباس جعفریان دهکردی، راحله شکوهی شورمستی، شیرین عبدالله کوهپایه اصفهانی
- ۲۰۱۳ بررسی میزان اشعه‌ی X دریافتی پرسنل بیهوشی در هنگام استفاده از فلورسکوپی در اعمال جراحی اورتوپدی
 دکتر داریوش مرادی فارسانی، دکتر خسرو نقیعی، دکتر کامران منتظری، میترا لطف الهی
- بررسی شیوع ژن CTX-M در سویه‌های Escherichia coli جدا شده از عفونت ادراری در دو گروه از بیماران سرپایی و بستری شهر اصفهان ۲۰۱۹
 مهدی مباحشریزاده، دکتر سید کاظم بیدکی، دکتر سینا مباحشریزاده
- رجیستر کردن تصاویر Optical Coherence Tomography دیسک نوری و تصاویر فوندوس با استفاده از الگوریتم‌های SURF و RANSAC ۲۰۳۶
 عالیه عهدی، دکتر حسین ربانی، دکتر علیرضا ورد
- ۲۰۳۶ بررسی مقایسه‌ای ویژگی‌های دو نوع صرع فراگیر و موضعی بر اساس تاریخچه‌ی خانوادگی صرع
 دکتر محمدرضا نجفی، شیماسعیدی، شهرزاد نعمت‌اللهی، دکتر رخساره معمار
- ردیابی ژن‌های gyrB، oprL، ETA و 16SrDNA در سویه‌های Pseudomonas aeruginosa جدا شده از نمونه‌های بالینی مراکز درمانی کرج ۲۰۴۳
 مهسا عطایی آشتیانی، دکتر تقی زهرایی صالحی

مقاله کوتاه

- ۲۰۴۹ ارزش اخباری مثبت شناسایی IgM اختصاصی در تشخیص عفونت حاد سرخچه
 سید محمود سیدخرمی، دکتر طلعت مختاری آزاد، دکتر ژیلایا پاوریان، ناهید مقدم نیا، آزاده شاداب، فاطمه عجمی نژاد فرد، اعظم صبوری، فاطمه سعادت‌مند، دکتر نازنین زهرا شفیعی جندقی

Original Articles

- The Effect of Persian Juniperus Excelsa Extracts on Cell-Cycle Phases of MCF-7 Breast Cancer Cell Line ... 2012
 Alireza Andalib PhD, Abbas Jafariyan-Dehkordi PhD, Raheleh Shokouhi-Shourmasti MSc, Shirin Abdollah-Kohpayeh-Esfahani MSc
- Occupational Radiation Exposure in Anesthesia Personal from C-Arm Fluoroscopy during Orthopedic Surgical Procedures 2018
 Daruosh Moradi-Farsani MD, Khosrou Naghibi MD, Kamran Montazeri MD, Miitra Lotfollahi
- Prevalence of CTX-M Genes in Escherichia Coli Strains in Outpatient and Inpatient Cases with Urinary Tract Infections in Isfahan, Iran 2025
 Mehdi Mobasherizadeh MSc, Seyed Kazem Bidoki PhD, Sina Mobasherizadeh PhD
- Registration of Optical Coherence Tomography (OCT) of Optic Nerve Head and Fundus Images Using Speeded-Up Robust Features (SURF) and Random Sample Consensus (RANSAC) Algorithms 2035
 Alieh Ahdi, Hossein Rabbani PhD, Alireza Vard PhD
- Different Characteristics between the Generalized and Partial Epilepsy Based on the Family History of Epilepsy 2042
 Mohammad Reza Najafi MD, Shima Saeidi, Shahrzad Nematollahi, Rokhsareh Meamar MD, PhD
- Molecular Detection of the Genes gyrB, oprL, ETA, 16SrDNA in Pseudomonas Aeruginosa Strains Isolated from Clinical Samples of Karaj City Health Centers, Iran 2048
 Mahsa Ataei-Ashtiani MSc, Taghi Zahraei-Salehi PhD

Short Communication

- Positive Predictive Value of IgM Detection in Diagnosis of Acute Rubella Infection 2053
 Seyed-Mahmood Seyed-Khorrami MSc, Talat Mokhtari-Azad DVM, MPH, PhD, Jila Yavarian MD, PhD, Nahid Moghadam-Nia, Azadeh Shadab, Fatemeh Adjaminezhad-Fard, Azam Sabouri MSc, Fatemeh Saadatmand, Nazanin-Zahra Shafiei-Jandaghi PhD



مجله دانشکده پزشکی اصفهان

سال سی و سوم، شماره (۳۶۰)، بهمن چهارم دی ۱۳۹۴

صاحب امتیاز:

دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی استان اصفهان

مدیر مسؤول: دکتر منصور شعله‌ور سردبیر افتخاری: دکتر رویا کلیشادی

سردبیر: دکتر مجید برکتین

معاون سردبیر: دکتر مریم راد احمدی

ناشر:

انتشارات دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

نشانی: اصفهان، خیابان هزار جریب، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

E-mail: publications@mui.ac.ir

دفتر مجله: دانشکده پزشکی صندوق پستی: ۸۱۷۴۴/۱۷۶

مسئول دفتر: گلناز رجبی

دورنگار: ۰۳۱-۳۷۹۲۲۲۹۱

تلفن: ۰۳۱-۳۶۶۹۴۷۳۷

E-mail: jims@med.mui.ac.ir

http://www.journals.mui.ac.ir/jims

وب سایت مجله:

امور نشر:

(ویراستاری، صفحه آرایی، طراحی و چاپ)

شرکت فرزاتگان راداندیش

اصفهان، صندوق پستی ۱۷۹۸-۸۱۴۶۵

تلفن و دورنگار: ۰۳۱-۳۶۶۸۶۳۰۲

f.radandish@gmail.com

www.farzaneganco.ir

تیراژ: ۵۰۰ نسخه

این مجله در نمایه‌های بین‌المللی زیر در دسترس قرار دارد.

- Scopus
- Chemical Abstracts
- Islamic World Science Citation Center (ISC)
- Academic Search Complete EBSCO Publishing databases
- WHO/EMRO/Index Medicus
- Google Scholar
- Index Copernicus
- Directory of Open Access Journal (DOAJ)
- Index Academicus
- Scientific Information Database (www.sid.ir)
- www.iranmedex.com

کپی‌رایت: چاپ مطالب مندرج در این مجله به شرط ذکر منبع مجله بلامانع است.

تصاویر رنگی مقالات و کلیپ‌های ویدئویی بر روی وب سایت مجله قابل دسترسی می‌باشند

اعضای شورای نویسندگان مجله دانشکده پزشکی اصفهان (به ترتیب حروف الفبا)

نام و نام خانوادگی	مرتبه علمی
۱- دکتر مجتبی ابطحی	دانشیار، متخصص گوش و حلق و بینی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲- دکتر ابراهیم اسفندیاری	استاد، متخصص علوم تشریحی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳- دکتر محمد اسماعیل اکبری	استاد، فوق تخصص جراحی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۴- دکتر فرامرز اسماعیل بیگی	استاد، متخصص داخلی، دانشکده‌ی پزشکی، آمریکا
۵- دکتر افسون امامی	دانشیار، فوق تخصص نفرولوژی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۶- شاهین امامی	گروه بیوشیمی و غدد داخلی، بیمارستان سن آنتونیو، فرانسه
۷- دکتر علیرضا امامی	دانشیار، متخصص بیماری‌های عفونی و گرمسیری، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۸- دکتر بابک امرا	استاد، فوق تخصص ریه، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۹- دکتر رضا امین	استاد، متخصص اطفال، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران
۱۰- دکتر کن باست	استاد، متخصص بیماری‌های پوستی، مرکز تحقیقات پوست و لیشمانیوز، کانادا
۱۱- دکتر رضا باقریان سرارودی	استادیار، متخصص روانشناسی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۲- دکتر مجید برکتین	استاد، متخصص روانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۳- فرزین پور فرزاد	گروه زیست شناسی سلولی و ژنتیک، دانشگاه اراسموس، روتردام، هلند
۱۴- دکتر مسعود پورمقدس	استاد، متخصص قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۵- دکتر احمد چیت‌ساز	دانشیار، متخصص داخلی اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۶- دکتر مینا حسن رضایی	متخصص نورو ایمنولوژی، دانشکده‌ی داروسازی، آمریکا
۱۷- دکتر سید مرتضی حیدری	دانشیار، متخصص بیهوشی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۸- دکتر بهناز خانی	دانشیار، متخصص زنان و زایمان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۹- دکتر مجید خزاعی	دانشیار، متخصص فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۰- دکتر حسن رزمجو	استاد، متخصص چشم، فلوشیپ ویتره و رتین، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۱- دکتر رضا روزبهانی	استادیار، متخصص پزشکی اجتماعی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۲- دکتر مسعود سهیلیان	استاد، فلوشیپ ویتره و رتین، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۲۳- دکتر منصور شعله‌ور	دانشیار، متخصص قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۴- دکتر محمدرضا صفوی	استادیار، متخصص بیهوشی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۵- دکتر خسرو عادل‌لی	استاد، متخصص بیوشیمی بالینی، دانشگاه تورنتو، تورنتو، کانادا
۲۶- دکتر سعید عندلیب	استاد، متخصص پاتولوژی، دانشگاه لوئیس ویل، آمریکا
۲۷- دکتر غلامرضا عسکری	متخصص بیماری‌های پوستی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۸- دکتر زیبا فرج‌زادگان	دانشیار، متخصص پزشکی اجتماعی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۹- دکتر حمید فشارکی	دانشیار، متخصص چشم، فلوشیپ ویتره و رتین، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳۰- دکتر مرجانه فولادی	دکترای پرستاری، دانشگاه فلوریدا، آمریکا
۳۱- دکتر علی قیصری	استاد، فوق تخصص جراحی قلب، کالیفرنیا، آمریکا
۳۲- دکتر منصور کارآموز	استاد، متخصص اورولوژی، کالیفرنیا، آمریکا
۳۳- دکتر رویا کلشادی	استاد، متخصص اطفال، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳۴- دکتر جعفر گلشاهی	دانشیار، فوق تخصص قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳۵- دکتر عزیز گه‌ری	استاد، متخصص بیماری‌های پوستی، مرکز تحقیقات پوست و لیشمانیوز، کانادا
۳۶- دکتر پروین محزونی	دانشیار، فوق تخصص آسیب شناسی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳۷- دکتر سید مهدی مدرس	استاد، متخصص چشم، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۳۸- دکتر محمد مردانی	دانشیار، متخصص علوم تشریحی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳۹- دکتر هوشنگ معین	استاد، متخصص جراحی اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۴۰- دکتر آتیه مغیثی	استاد، متخصص غدد داخلی، مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم، آمریکا
۴۱- دکتر مجید ملکی	استاد، متخصص قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۴۲- دکتر محمدرضا نوربخش	دانشیار، متخصص فیزیوتراپی، آمریکا
۴۳- دکتر فریدون نوحی	استاد، متخصص قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۴۴- دکتر علی محمد هنجنی	استاد، متخصص قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران

راهنمای نگارش و ارسال مقاله علمی - پژوهشی

مجله علمی - پژوهشی دانشکده پزشکی اصفهان، در SCOPUS نمایه شده و به صورت هفته‌نامه، تحت حمایت دانشگاه علوم پزشکی اصفهان منتشر می‌گردد. این مجله اقدام به انتشار مقالات علمی در زمینه پژوهش‌های علوم پزشکی (پایه و بالینی) و رشته‌های وابسته به آن می‌نماید. مقالاتی در این مجله پذیرفته می‌شوند که علمی - پژوهشی بوده و پیش از این در جای دیگری منتشر نشده و یا حتی به طور همزمان به مجلات دیگر ارسال نگردیده باشند. این مجله مقالات به زبان فارسی شامل انواع پژوهشی اصیل، مروری، گزارش موردی، مقالات کوتاه، مقالات دارای امتیاز بازآموزی و نامه به سردبیر را منتشر می‌نماید و بر روی وب سایت مجله به آدرس <http://jims.mui.ac.ir> قرار می‌دهد. مقالات ارسالی باید در فرمت پیشنهادی مجله ارسال گردند و به دست نوشته‌هایی که در خارج از فرمت ذکر شده در راهنمای نویسندگان ارسال گردند ترتیب اثر داده نخواهد شد.

هیأت تحریریه پس از دریافت مقالات اقدام به بررسی مقاله از لحاظ ساختاری و موضوعی می‌نماید و چنانچه مقاله در بررسی اولیه مورد تأیید باشد، برای داوری ارسال می‌شود. زمان فرایند داوری (از دریافت تا پذیرش نهایی آن) ۳ ماه و در صورت تقاضا جهت بررسی سریع‌تر با شرایط ذکر شده در راهنمای نویسندگان ۲۱ روز می‌باشد. لازم به ذکر است داوری و انتشار مقاله در این هفته نامه مستلزم پرداخت هزینه است. لذا پس از انجام مراحل داوری و پذیرش مقاله و قبل از صدور نامه پذیرش، لازم است نویسندگان محترم فرایند مالی را تکمیل نمایند.

نحوه ارسال دست نوشته‌ها در سامانه

نویسندگان محترم پس از آماده سازی دست نوشته مطابق راهنمای نویسندگان، از طریق ثبت نام (Registration) در سامانه الکترونیک مجله دانشکده پزشکی اصفهان به آدرس <http://jims.mui.ac.ir>، می‌توانند وارد صفحه شخصی خود شده و تمامی بخش‌ها را تکمیل و دست نوشته را ارسال نمایند.

توجه به نکات زیر در ارسال مقاله ضروری است:

- ارسال مقاله منحصراً از طریق ثبت نام در سامانه الکترونیک مجله دانشکده پزشکی انجام می‌شود. لازم است فقط نویسنده مسؤول اقدام به سابمیت مقاله نماید و مقالاتی که توسط سایر نویسندگان یا اشخاص دیگر سابمیت شوند مورد بررسی قرار نخواهند گرفت.

- نویسنده‌ای که برای بار دوم اقدام به ارسال مقاله اصلاح شده خود می‌نماید، حتماً باید از طریق صفحه شخصی قبلی خود اقدام نموده و به هیچ عنوان دوباره به عنوان کاربر جدید و با ایمیل جدید در سامانه ثبت نام نکند.

- وارد کردن اسامی تمامی نویسندگان در سامانه و در محل مربوط به وارد کردن اسامی نویسندگان مقاله، الزامی است.

- پس از ارسال مقاله، تغییر اسامی نویسندگان امکان‌پذیر نمی‌باشد.

- فایل‌هایی که نویسنده در مرحله اولیه ارسال می‌کنند شامل: (۱) فایل Word صفحه عنوان (۲) فایل Word دست نوشته، (۳) فرم تعهدنامه، (۴) فرم مشخصات کامل نویسندگان (Cover letter) است که به ترتیب بایستی آپلود گردند.

- نویسندگان در قسمت ارسال فایل‌ها، با ارسال یک فایل تعهد نامه که به امضای همه نویسندگان رسیده است، حق انتشار مقاله را به مجله دانشکده پزشکی اصفهان واگذار می‌نمایند. در غیر این صورت مقاله در روند داوری قرار نخواهد گرفت.

- مقالات ارسالی باید دارای فایل مجزا (Cover letter) شامل یک نامه خطاب به سردبیر حاوی عنوان مقاله، اسم، آدرس و ایمیل نویسنده مسؤول، اسامی و ایمیل سایر نویسندگان باشد. در این نامه بایستی به صراحت اعلام گردد که دست نوشته در مجلات دیگر چاپ نشده است یا همزمان در حال بررسی نمی‌باشد.

- در مرحله دوم بعد از این که دست نوشته از نظر همراستایی و فرمت مجله مورد ارزیابی اولیه قرار گرفت و تأییدیه دفتر مجله در خصوص قابل ارجاع بودن آن دست نوشته برای شروع فرایند داوری ارسال گردید، ضروری است ۵۰ درصد کل هزینه به منظور شروع فرآیند داوری به عنوان (Processing fee) بر اساس موارد ذکر شده در بخش هزینه انتشار راهنمای نویسندگان پرداخت گردد. این هزینه غیر قابل برگشت می‌باشد. سپس فایل مربوط به تصویر اسکن شده فیش پرداختی فقط با نام نویسنده مسؤول از طریق سایت به دفتر مجله ارسال گردد. لازم به ذکر است تنظیم دست نوشته بر اساس فرمت مجله، و پرداخت وجه اولیه فقط جهت ارسال به داوران بوده و دال بر پذیرش آن نمی‌باشد.

نحوه ارایه مقاله

از مؤلفان گرامی تقاضا می‌شود، در ارسال مقالات به نکات زیر توجه فرمایند:

- ارسال مقاله فقط از طریق سایت پذیرفته می‌شود.

- زبان رسمی مجله، فارسی است و مقالات فقط به زبان فارسی همراه با چکیده انگلیسی قابل پذیرش هستند.

- دست نوشته‌های به زبان‌های غیر از فارسی و ترجمه شده در این مجله منتشر نمی‌شود.

- مقالات باید پژوهشی و حاصل تحقیق نویسنده یا نویسندگان در زمینه علوم پزشکی (پایه و بالینی) و رشته‌های مرتبط بوده که پیش از این به انگلیسی یا فارسی در سایر مجلات منتشر نشده باشد و یا به طور همزمان به مجلات دیگر نیز ارسال نگردیده باشد.

- این مجله مقالات شامل انواع اصلی و پژوهشی، مروری، مقالات کوتاه، مقالات دارای امتیاز بازآموزی و نامه به سردبیر را در منتشر می‌نماید.

- فیلم‌های آموزشی تهیه شده توسط محققین نیز توسط این مجله انتشار می‌یابد.

- مقالات قابل انتشار در مجله علمی- پژوهشی دانشکده پزشکی اصفهان شامل موارد زیر می‌باشند.

الف- مقالات پژوهشی اصیل: مقالات علمی- پژوهشی با حداکثر حجم ۲۵۰۰ کلمه؛ سقف مجموع جداول و تصاویر ۴، سقف منابع و مآخذ ۳۰ عدد می‌باشد.

ب- مقالات کوتاه پژوهشی: مقالات علمی کوتاه پژوهشی با حداکثر ۱۰۰۰ کلمه؛ سقف مجموع جداول و تصاویر ۲، سقف منابع و مآخذ ۱۵ عدد می‌باشد.

ج- مقالات مروری - مقالات مروری (Review Article) از نویسندگان مجرب و صاحب مقالات پژوهشی در زمینه مورد بحث پذیرفته خواهد شد. اصول کلی نگارش مشابه سایر مقاله‌های پژوهشی است. این نوع مقالات با حداکثر ۷۰۰۰ کلمه می‌باشند. در فهرست منابع حداقل ۶ مرجع مورد استفاده می‌بایستی متعلق به نویسنده باشد (با حداقل چهار مقاله از شش مقاله به عنوان نویسنده اول و یا نویسنده مسؤول). برای ارسال مقالات مروری ضروری است که حتماً از قبل با سردبیر مجله هماهنگی لازم صورت گرفته و سپس اقدام به ارسال دست نوشته نمایند در غیر اینصورت مجله از بررسی آن معذور است.

د- نامه به سردبیر- نامه به سردبیر می‌تواند به صورت ارایه مشاهدات علمی یا نقد یکی از مقالات چاپ شده در این مجله باشد و با بحثی کوتاه، همراه با درج فهرست منابع نگاشته شود. نامه به سردبیر با حداکثر ۱۰۰۰ کلمه؛ سقف مجموع جداول و تصاویر ۲، سقف منابع و مآخذ ۵ عدد می‌باشد. نقد مقاله برای نویسنده مسؤول مقاله مورد نقد، ارسال خواهد شد و همراه با پاسخ وی، در صورت تصویب شورای نویسندگان به چاپ خواهد رسید.

ه- تحقیقات کیفی- تحقیقات کیفی با حداکثر ۳۰۰۰ کلمه؛ سقف مجموع جداول و تصاویر ۴، سقف منابع و مآخذ ۳۰ عدد می‌باشد.

ز- گزارش مورد- گزارش‌های موردی شامل گزارش موارد نادر یا جالب است و باید شامل چکیده، مقدمه، گزارش مورد، بحث، نتیجه‌گیری، سپاس‌گزاری و منابع باشد. گزارش مورد با حداکثر ۱۰۰۰ کلمه؛ سقف مجموع جداول و تصاویر ۵، سقف منابع و مآخذ ۱۵ عدد می‌باشد.

تبصره ۱- مقالات ترجمه پذیرفته نمی‌شود.

تبصره ۲- ارسال دست نوشته یا مدارک با فرمت PDF به هیچ عنوان پذیرفته نیست.

تبصره ۳- مقاله‌های کارآزمایی بالینی پیش از ارسال برای انتشار، بایستی در یکی از مراکز ثبت کارآزمایی‌های بالینی مانند مرکز ثبت کارآزمایی بالینی ایران IRCT به آدرس زیر ثبت شده و کد ثبت آنها به همراه مقاله ارسال شود: <http://www.irct.ir>

- مقالات ارسالی باید دارای بخش‌های ذیل باشند و به دست نوشته‌هایی که خارج از فرمت ذکر شده ارسال گردند ترتیب اثر داده نخواهد شد.

- دست‌نوشته باید توسط نرم‌افزار MS Word در سایز A4 و فاقد هرگونه صفحه‌آرایی، فاصله خطوط ۱ برابر (Single) با حاشیه‌های ۲/۵ سانتی‌متری، به صورت یک ستونی، قلم B Zar و سایز ۱۱، قلم عنوان B Zar و سایز ۱۱ Bold تهیه شوند. برای تایپ متن خلاصه انگلیسی و رفرنس‌ها از قلم Time New Roman سایز ۱۰ و جهت قلم عنوان لاتین نیز از قلم Time New Roman سایز ۱۰ Bold استفاده شود.

- معادلات باید به صورت خوانا با حروف و علائم مناسب با استفاده از Microsoft Word Equation تهیه شوند. واحدها بر حسب واحد بین‌المللی (SI) و معادلات به ترتیب شماره‌گذاری شوند.

- دست نوشته باید شامل دو فایل: (۱) فایل Word صفحه عنوان (۲) فایل Word دست نوشته (به ترتیب دارای چکیده، مقدمه، روش‌ها، یافته‌ها، بحث، تقدیر و تشکر و منابع) باشد. تأکید می‌گردد از ارسال فایل‌های متعدد حاوی جداول، تصاویر و غیره خودداری شود.

صفحه عنوان: این صفحه باید شامل عنوان کامل، عنوان مکرری، اسامی نویسنده یا نویسندگان با بالاترین مدرک تحصیلی، گروه یا بخش یا مؤسسه محل فعالیت ایشان و همچنین آدرس، تلفن، فاکس و پست الکترونیکی نویسنده مسؤول و تقدیر و تشکر (شامل تشکر از افراد، شماره طرح پژوهشی و یا پایان نامه، ذکر منابع مالی و اعتباری طرح پژوهشی) باشد. ضروری است که علاوه بر ذکر تقدیر و تشکر در صفحه عنوان، در پایان دست نوشته نیز بخش تقدیر و تشکر مجدد تکرار گردد.

- ذکر اسامی نویسنده یا نویسندگان با بالاترین مدرک تحصیلی، گروه یا بخش یا مؤسسه محل فعالیت ایشان به انگلیسی نیز در صفحه عنوان الزامی است.

تبصره ۱- عنوان مقاله معرف محتوای مقاله باشد و از ۲۰ واژه تجاوز نکند.

تبصره ۲- با توجه به سیستم الکترونیک مجله، مقاله مستقیماً برای داور ارسال می‌گردد، لذا توجه شود که در فایل ورد پس از صفحه عنوان، مقاله فاقد اسامی نویسندگان باشد. در غیر این صورت تا اصلاح شدن فایل، ارسال مقاله برای داور متوقف می‌شود.

- چکیده: تمام مقالات اصلی باید دارای چکیده مقاله به دو زبان فارسی و انگلیسی با حداکثر ۲۵۰ کلمه باشد. چکیده باید شامل بخش‌های مقدمه، روش‌ها، یافته‌ها، بحث و واژگان کلیدی باشد. در پایان چکیده مقاله سه الی پنج کلمه کلیدی قرار می‌گیرد که بایستی تنها با استفاده از راهنمای MeSH از آدرس (<http://nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.html>) استخراج گردند. چکیده انگلیسی بایستی دقیقاً معادل چکیده فارسی باشد و شامل بخش‌های **Keywords, Conclusion, Findings, Methods, Background** باشد.

- مقدمه و معرفی: در این بخش اهداف و علل انجام مطالعه آورده می‌شود؛ بنابراین نیازی به ارائه گسترده مطالب موجود در متون علمی نیست. در این بخش باید از ارائه اطلاعات، یافته‌های و نتایج مطالعه خودداری گردد.

- روش‌ها: این بخش شامل ارائه دقیق مشاهدات، مداخلات و روش‌های مورد استفاده در مطالعه است. اگر روش مورد استفاده شناخته شده است فقط منبع آن ذکر گردد اما اگر روشی نوین است، باید به صورتی توضیح داده شود که برای سایر محققان قابل درک و به طور عینی قابل انجام و تکرار باشد. در صورت استفاده از

دستگاه و تجهیزات خاص باید نام، نام کارخانه سازنده و آدرس آن در پراونت ذکر گردد. اگر از دارو در مطالعه استفاده شده است باید نام ژنریک، دوز و روش مصرف آن آورده شود. در مورد افراد و بیماران تحت مطالعه باید جنس و سن (همراه انحراف معیار) آورده شود. در مورد نرم افزارها و سیستم های کامپیوتری باید سال و ویرایش آن در پراونت و پس از نام آن ذکر گردد.

در صورتی که مطالعه دارای پرسش نامه یا چک لیست است، ضمیمه کردن آن لازم است؛ شیوه تأمین روایی مشخص شود و توصیف دقیق فرآیند اجرایی برای رواسازی آن توضیح داده شود. چگونگی تعیین روش های مورد استفاده برای تأمین پایایی پرسش نامه و گزارش نتایج آزمون های آماری به کار گرفته شده جهت تأمین پایایی توضیح داده شود. در مورد پرسش نامه های استاندارد ذکر نام و مرجع آن کافی است.

- یافته ها: این بخش به صورت متن همراه با جدول ها، شکل ها و نمودارها ارائه می گردد. در این بخش فقط یافته ها ارائه می شود و باید از ذکر دلایل و استدلال های مرتبط با آن خودداری گردد. محتوای جداول نباید به صورت کامل در متن ارائه شوند، بلکه کافی است با ذکر شماره جدول، شکل و یا نمودار به آنها در میان متن اشاره شود. جدول ها، نمودارها و شکل ها هر کدام باید در یک صفحه جداگانه و پس از منابع، در پایان دست نوشته به ترتیب آورده شوند. همچنین باید جداول و نمودارها در فایل اصلی دست نوشته، علاوه بر ارجاع در متن، محل قرارگیری آنها نیز جانمایی شده باشند.

- بحث: در این بخش در ابتدا به یافته های مهم اساسی مطالعه و سپس تشابه و تفاوت های آن با یافته های سایر پژوهشگران در مطالعات مشابه اشاره می گردد. ذکر جزئیات کامل یافته ها در این بخش لازم نیست. تأکید بر یافته های جدید و با اهمیت مطالعه حاضر و دستاوردهای آن در این قسمت ضروری است. ذکر این که فرضیه ارائه شده در مطالعه صحیح یا نادرست بوده، یا این که دلایل کافی برای رد یا قبول آن به دست نیامده است، ضروری می باشد. هدف این بخش، ذکر دلیل اصلی انجام تحقیق، تحلیل و تفسیر یافته ها و همچنین نتیجه گیری کلی (Conclusion) است.

- جدول ها: جداول بدون حاشیه خارجی ارسال گردد. تعداد محدود جدول با توجه به حجم مطالعه و مقاله، همراه با ذکر عنوان آن در بالای جدول مورد قبول خواهد بود. ارسال جداول فقط تحت نرم افزار MSWord مورد قبول است. توضیحات اضافی در خصوص محتوای جداول باید به صورت پی نوشته و در پایین جدول باشد. جدول ها باید در صفحات جداگانه و در پایان دست نوشته (پس از منابع) قرار داده شوند. جدول ها باید دارای زمینه سفید و بدون سایه و ترم باشد. جداول باید توسط نرم افزار MS Word و فاقد هرگونه صفحه آرایی، فاصله خطوط ۱ برابر (Single)، قلم B Zar و سایز ۱۰ و قلم متغیرهای هر ستون B Zar و سایز ۱۰ Bold تهیه شوند. برای تایپ کلمات لاتین در جدول از قلم Time New Roman سایز ۹ استفاده شود.

- تصویر و نمودار: تصویر یا نمودار همراه ذکر عنوان آن در زیر و با فرمت JPG قابل قبول است. لازم است هر تصویر با کیفیت ۲۰۰ نقطه در اینچ و محدودیت حجم حداکثر ۵۰۰ کیلو بایت در نظر گرفته شود.

تبصره ۱- اگر شکل یا جدولی از مرجع دیگری اخذ شده است، شماره مرجع در آخر عنوان جدول یا شکل نوشته شود و مشخصات مأخذ در بخش مراجع درج شود. -تقدیر و تشکر: در این بخش تمام افرادی که به نحوی در انجام مطالعه نقش داشته ولی جزء نویسندگان نبوده اند مورد تقدیر قرار گیرند؛ از جمله کسانی که کمک های فنی، نوشتاری و مالی داده و همچنین سرپرستان و مدیران بخش های محل انجام مطالعه که در امر پشتیبانی های عمومی در اجرای تحقیق فعالیت داشته اند. همچنین ذکر نام سازمان (های) حمایت کننده یا تأمین کننده مالی پژوهش در این بخش ضروری است.

- در صورتی که دست نوشته حاصل از پایان نامه دانشجویی باشد حتماً بایستی در قسمت تقدیر و تشکر شماره پایان نامه مصوب دانشگاه و نیز نام دانشگاه ذکر گردد.

- تبصره ۱- ضروری است که علاوه بر ذکر تقدیر و تشکر در صفحه عنوان، در پایان دست نوشته نیز بخش تقدیر و تشکر مجدد تکرار گردد.

- منابع: نویسنده باید از صحت اشاره منابع ذکر شده به مطالب مورد استناد مطمئن باشد. ساختار منابع در این مجله بر اساس معاهده ونکوور (Vancouver) می باشد. تمامی منابع باید به زبان انگلیسی باشد، ترجمه متن منابع فارسی به عهده نویسنده است و در پایان آن عبارت [In Persian] خواهد آمد. موارد ذیل برای نمونه ذکر می گردد:

- اگر منبع مورد نظر مقاله است:

نام خانوادگی (فاصله) حرف اول نام کوچک نویسنده (.) عنوان مقاله (.) مخفف نام مجله (بر اساس Medline) (فاصله) سال انتشار (:) شماره ی انتشار (شماره ی مجله) (: شماره ی صفحات). مثال:

نمونه انگلیسی:

Inser N. Treatment of calcific aortic stenosis. Am J Cordial 1987; 59(6): 314-7

نمونه فارسی:

Zini F, Basiri Jahromi Sh. Study of fungal infections in patients with leukemia. Iran J Public Health 1994; 23(1-4): 89-103. [In Persian].

(نام نویسندگان با علامت کاما از هم جدا شود. ذکر اسامی نویسندگان تا نفر ششم الزامی است. اگر تعداد نویسندگان بیش از شش نفر باشد، پس از نام نفر ششم، از عبارت "et al." استفاده شود.)

- اگر منبع مورد نظر کتاب است:

نام خانوادگی (فاصله) حرف اول نام کوچک نویسنده (.) عنوان کتاب (.) نوبت چاپ (.) محل نشر (:) ناشر (:) سال انتشار (.) P (.) شماره صفحات (.) مثال:

نمونه انگلیسی:

Romenes GJ. Cunningham's manual. 15th ed. New York, NY: Oxford Univ Press; 1987.

نمونه فارسی:

Azizi F, Janghorbani M, Hatami H. Epidemiology and control of common disorders in Iran. 2nd ed. Tehran, Iran: Eshtiaqh Publication; 2000. p. 558. [In Persian].

- اگر منبع مورد نظر فصلی از کتاب است:

نام خانوادگی (فاصله) حرف اول نام کوچک نویسنده آن فصل. عنوان فصل مورد نظر. در: نام خانوادگی (فاصله) حرف اول نام کوچک تدوین کننده ی کتاب. عنوان کتاب. نوبت چاپ. محل نشر: نام ناشر؛ سال انتشار. P. صفحات. مثال:

Bodly L, Bailey Jr. Urinary tract infection. In: Tailor R, editor. Family medicine. 6th ed. New York, NY: Springer; 2003. p. 807-13.

- منابع به صورت پایان نامه

نام خانوادگی نویسنده (فاصله) حرف اول نام کوچک نویسنده (.) عنوان پایان نامه (فاصله) [مقطع پایان نامه] (.) نام شهر، کشور (:) نام دانشکده (.) نام دانشگاه (:) سال انتشار

- منابع به صورت الکترونیکی - مجله الکترونیکی روی اینترنت

نام خانوادگی (فاصله) حرف اول نام کوچک نویسنده (.) عنوان مقاله (.) نام اختصاری مجله الکترونیکی (فاصله) [online] (سال نشر (و ماه نشر در صورت لزوم) دوره (شماره) (: [شماره صفحات یا قابها] (.) [روز، ماه و سال دسترسی [cited] (: Available from (:) آدرس اینترنتی دسترسی مثال:

Mosharraf R, Hajian F. Occlusal morphology of the mandibular first and second premolars in Iranian adolescents. Inter J Dental Anthropol [Online] 2004; 5: [3 Screens] [cited 2006 Nov 13]; Available from: <http://www.jida.syllabapress.com/abstractsijda5.shtml>

منابع به صورت صفحه وب

نام خانوادگی (فاصله) حرف اول نام کوچک نویسنده [یا شرح پدیدآور] (.) عنوان (.) سال نشر در صورت دسترسی (: [شماره صفحات یا قابها] [روز، ماه و سال دسترسی [cited] (: Available from (:) آدرس اینترنتی دسترسی مثال:

Dentsply Co. BioPure (MTAD) Cleanser. [2 screens] [cited 2006 Nov 26]. Available from: www.store.tulsadental.com/catalog/biopure.html

- نمونه خوانی (**Proofreading**): یک نسخه از مقاله پیش از چاپ جهت انجام اصلاحات ضروری و بر طرف کردن اشکالات احتمالی برای نویسنده مسؤل ارسال می گردد که لازم است در کوتاه ترین زمان تغییرات مورد نظر مجله انجام داده، از طریق وبسایت مجله ارسال نماید.

- اختصارات و نشانه ها: تنها از اختصارات و نشانه های استاندارد استفاده شود و از ذکر عبارت های مخفف در عنوان و خلاصه مقاله خودداری گردد.

- توضیح کامل در مورد هر کدام از عبارت های اختصاری برای اولین بار در متن آورده شود، مگر این که مربوط به مقیاس ها و مقادیر استاندارد شناخته شده باشد.

- پس از انتشار، نسخه ای برای نویسنده مسؤل ارسال نخواهد شد و شماره های مجله از طریق سایت برای نویسندگان و خوانندگان قابل دسترسی می باشد.

- ملاحظات اخلاقی: این ملاحظات باید در بخش روش ها اشاره گردند. اخذ رضایت نامه از کلیه ی افراد بالغ شرکت کننده در مطالعه ضروری است و در مورد کودکان و افراد تحت تکفل باید از ولی قانونی آنها اخذ شود. ذکر منبع تأیید کننده ی ملاحظات اخلاقی مطالعه لازم است. هنگام استفاده از حیوانات آزمایشگاهی ذکر رعایت و مقررات استاندارد مربوط لازم است.

- تداخل منافع (Conflict of Interest): نویسنده یا نویسندگان باید هر گونه ارتباط مالی مانند دریافت هزینه، حق الزحمه، مواد و تجهیزات از دانشگاه ها، سازمان ها، نهادها، شرکت ها و سایر منابع که انتشار یافته های مطالعه می تواند به آنها سود یا زیان برساند را اعلام نمایند.

- هزینه انتشار:

محاسبه هزینه‌های دریافتی براساس جدول زیر می‌باشد:

هزینه دریافتی (هزار تومان) * (هزار تومان)	هزینه دریافتی (هزار تومان) *	تعداد کلمات مجاز شامل کلیه بخش‌های مقاله، رفرنس‌ها، شکل‌ها و نمودارها (هر شکل برابر ۳۰۰ کلمه محاسبه می‌شود)	نوع مقاله
-	-	۴۰۰	نامه به سردبیر
۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰۰	گزارش مورد
۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰۰	کوتاه
۱۰۰	۲۰۰	۲۵۰۰	پژوهشی اصیل
۱۰۰	۲۰۰	۳۰۰۰	پژوهشی اصیل (مطالعات کیفی)
۱۰۰	۲۰۰	۷۰۰۰	مروری

* هزینه‌های ستون سوم صرفاً برای مقالاتی که هم نویسنده اول و هم نویسنده مسئول هر دو وابسته به دانشگاه علوم پزشکی اصفهان (IUMS) باشند، مشمول ۵۰٪ تخفیف خواهد بود.

- ۵۰ درصد کل هزینه در ابتدا و بعد از دریافت ایمیل شروع فرآیند به عنوان (Processing fee) به منظور شروع داوری دریافت می‌گردد. این هزینه غیر قابل بازگشت خواهد بود. فایل مربوط به تصویر اسکن شده فیش پرداختی فقط با نام نویسنده مسئول از طریق سایت به دفتر مجله ارسال گردد. لازم به ذکر است تنظیم دست نوشته بر اساس فرمت مجله و پرداخت وجه فقط جهت فرآیند داوری می‌باشد و تعهدی برای پذیرش مقاله ایجاد نمی‌نماید. ۵۰ درصد هزینه باقیمانده در صورت پذیرش نهایی مقاله به عنوان Acceptance fee دریافت خواهد شد.

- نویسنده مسئول می‌بایست وجه مورد نظر را به شماره حساب ۴۹۷۵۷۶۱۰۰۷ بانک ملت بنام دانشگاه علوم پزشکی اصفهان برای پرداخت از طریق بانک‌های ملت و شماره شبای ۴۹۷۵۷۶۱۰۰۷ به شماره شناسه ۵۸۰۱۲۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۲ برای پرداخت از طریق سایر بانک‌ها واریز نماید. سپس اسکن فیش واریزی را فقط از طریق سایت به دفتر مجله ارسال نماید.

- در صورت تقاضای "بررسی سریع" (Fast track) زمان بررسی مقاله تا تصمیم گیری نهایی به ۲۱ روز تقلیل خواهد یافت. در این حالت کل هزینه به اضافه ۴۰ درصد هزینه "بررسی سریع" در ابتدای فرآیند داوری اخذ خواهد شد.
حق نسخه‌برداری (Copyright): تمامی محتویات مجله دانشکده پزشکی اصفهان تحت قانون حق نسخه‌برداری بین‌المللی قرار دارد. این مجله برای استفاده غیر تجاری در اختیار افراد قرار می‌گیرد. اصلاح، انتشار، انتقال و نمایش هر گونه محتویات مجله بدون ذکر نام این مجله ممنوع است.
- فرآیند مرور دقیق (Peer Review): تمام دست‌نوشته‌ها توسط داوران منتخب شورای نویسندگان مجله مورد بررسی دقیق قرار می‌گیرد. نویسنده‌ی مسئول در کوتاه‌ترین زمان در جریان تصمیم سردبیر در مورد رد، قبول یا اصلاحات مورد نظر داوران و هیأت تحریریه قرار خواهد گرفت. در صورت پذیرش مقاله برای چاپ، نامه پذیرش به همراه ایمیل برای نویسنده‌ی مسئول ارسال می‌شود و مقاله در نوبت چاپ قرار خواهد گرفت.
- هیأت تحریریه در رد، اصلاح، ویرایش و خلاصه کردن مقاله آزاد است.
-- مسؤولیت صحت یا سقم مطالب ارایه شده در مقاله بر عهده‌ی نویسنده یا نویسندگان است.

فهرست مطالب

مقاله‌های پژوهشی

- ۲۰۰۴..... بررسی اثر عصاره‌ی منتخبی از مخروطیان بومی ایران بر رده‌ی سلولی سرطان پستان انسان (MCF-7) به روش فلوسایتومتری.....
دکتر علیرضا عندهلیب، دکتر عباس جعفریان دهکردی، راحله شکوهی شورمستی، شیرین عبدالله کوهپایه اصفهانی
- ۲۰۱۳..... بررسی میزان اشعه‌ی X دریافتی پرسنل بیهوشی در هنگام استفاده از فلورسکوپی در اعمال جراحی اورتوپدی.....
دکتر داریوش مرادی فارسانی، دکتر خسرو نقیعی، دکتر کامران منتظری، میترا لطف الهی
- ۲۰۱۹..... بررسی شیوع ژن CTX-M در سویه‌های *Escherichia coli* جدا شده از عفونت ادراری در دو گروه از بیماران سرپایی و بستری شهر اصفهان.....
مهدی مباشری‌زاده، دکتر سید کاظم بیدکی، دکتر سینا مباشری‌زاده
- ۲۰۲۶..... رجیستر کردن تصاویر Optical Coherence Tomography دیسک نوری و تصاویر فونودوس با استفاده از الگوریتم‌های SURF و RANSAC.....
عالیه عهدی، دکتر حسین ربانی، دکتر علیرضا ورد
- ۲۰۳۶..... بررسی مقایسه‌ای ویژگی‌های دو نوع صرع فراگیر و موضعی بر اساس تاریخچه‌ی خانوادگی صرع.....
دکتر محمدرضا نجفی، شیمیا سعیدی، شهرزاد نعمت‌اللهی، دکتر رخساره معمار
- ۲۰۴۳..... ردیابی ژن‌های *oprL*، *gyrB* و *ETA* و *16SrDNA* در سویه‌های *Pseudomonas aeruginosa* جدا شده از نمونه‌های بالینی مراکز درمانی کرج.....
مهسا عطایی آشتیانی، دکتر تقی زهرایی صالحی

مقاله کوتاه

- ۲۰۴۹..... ارزش اخباری مثبت شناسایی IgM اختصاصی در تشخیص عفونت حاد سرخجه.....
سیدمحمود سیدخرمی، دکتر طلعت مختاری آزاد، دکتر ژیلایا یاوریان، ناهید مقدم نیا، آزاده شاداب، فاطمه عجمی نژاد فرد، اعظم صبوری، فاطمه سعادت‌منند، دکتر نازنین زهرا شفیعی جندقی

بررسی اثر عصاره‌ی منتخبی از مخروطیان بومی ایران بر رده‌ی سلولی سرطان پستان انسان (MCF-7) به روش فلوسایتومتری

دکتر علیرضا عندلیب^۱، دکتر عباس جعفریان دهکردی^۲، راحله شکوهی شورمستی^۳، شیرین عبدالله کوهپایه اصفهانی^۳

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: چرخه‌ی سلولی طی چهار مرحله‌ی عمده صورت می‌گیرد. همانندسازی DNA طی مرحله‌ی سنتز انجام می‌شود و سلول‌ها پس از عبور از مرحله‌ی موقتی GAP2، فرایند پیچیده‌ی میتوز (M) را شروع می‌کنند. سلول‌های سرطانی در محیط کشت به صورت نامحدود وارد چرخه‌ی سلولی می‌شوند. در محیط کشت آزمایشگاهی می‌توان میزان جمعیت سلولی در مراحل مختلف چرخه‌ی سلولی را تحت تأثیر هر نوع ماده‌ای سنجش نمود.

روش‌ها: عصاره‌ی تهیه شده از تعدادی گیاهان مخروطیان بومی ایران به نام‌های ۱- Juniperus polycarpus (برگ سرشاخه‌ی نر)، ۲- Juniperus excelsa (سرشاخه‌ی برگ‌دار)، ۳- Juniperus excelsa (میوه)، ۴- Juniperus Foetidissima (برگ نر)، ۵- Juniperus Foetidissima (برگ ماده)، ۶- Juniperus depressa (میوه)، ۷- Juniperus depressa (برگ نر)، ۸- Juniperus communis (برگ ماده) و ۹- Juniperus communis (برگ نر) به رقت‌های متفاوت بر محیط کشت رده‌ی سلولی سرطان سینه MCF-7 آزمایش گردید. جمعیت سلولی در فازهای مختلف چرخه‌ی سلولی پس از گذشت ۴۸ ساعت با دستگاه فلوسایتومتری و نرم‌افزار Cylchred و CellQuest اندازه‌گیری و آنالیز شد. از پروپیدیوم آیودید (Propidium iodide) برای رنگ‌آمیزی مقدار DNA هسته‌ی سلولی به عنوان شاخص وجود سلول‌ها در فازهای مختلف چرخه‌ی سلولی استفاده گردید.

یافته‌ها: سلول‌های MCF-7 در چاهک کشت بدون تیمار عصاره‌ی گیاهی، ۴۵/۸۶ درصد در فاز G0/G1، ۴۷/۵۲ درصد در فاز سنتز و ۶/۶۲ درصد در فاز G2/M قرار داشتند. همین مقادیر تحت تأثیر داروی شاهد مثبت Taxol، در مراحل G0/G1، سنتز و G2/M به ترتیب برابر با ۱۷/۳۱، ۴۰/۱۸ و ۴۲/۵۱ درصد بود. مقایسه‌ی مقادیر به دست آمده، توقف چرخه‌ی سلولی و نگهداری سلول‌ها در فاز G2/M را برای داروی Taxol نشان داد. بررسی عصاره‌های تحت آزمایش مشخص نمود که بیشترین اثر را عصاره‌ی میوه‌ی Juniperus excelsa داشت و قدرت سنتز رده‌ی سلولی MCF-7 را از ۴۶/۸۱ به ۲۱/۹۷ درصد تقلیل داد. همچنین، همین عصاره توانست ۲۳/۱۱ درصد جمعیت سلولی را در فاز G2/M بلوکه کند که از لحاظ آماری حدود سه برابر میزان شاهد منفی بود.

نتیجه‌گیری: نتایج تحقیق حاضر نشان داد که مواد بیولوژیک موجود در گیاهان مخروطی ایران ترکیباتی را در مسیر فیزیولوژی رشد و نمو ایجاد می‌کند که می‌تواند اثرات قابل ملاحظه‌ای بر چرخه‌ی رشد سلول‌های سرطانی سینه بگذارد. ارزیابی و خالص‌سازی نوع ترکیب مؤثر در عصاره‌های گیاهی از ضروریات فعالیت علمی در زمینه‌ی کشف داروی ضد سرطان است.

واژگان کلیدی: MCF-7، مخروطیان بومی ایران، عصاره، فلوسایتومتری، چرخه سلولی

ارجاع: عندلیب علیرضا، عباس جعفریان دهکردی، راحله شکوهی شورمستی، شیرین عبدالله کوهپایه اصفهانی. بررسی اثر عصاره‌ی منتخبی از مخروطیان بومی

ایران بر رده‌ی سلولی سرطان پستان انسان (MCF-7) به روش فلوسایتومتری. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۴؛ ۳۳ (۳۶۰): ۲۰۱۲-۲۰۰۴

مقدمه

یک عامل بر روی یک رده‌ی سلولی بدون درگیری تمامی اعضا و بافت‌های موجود زنده و ارزیابی اختصاصی فقط یک نوع اثر، امتیاز ویژه‌ای دارد. به طور کلی کشت سلول‌های بافت جانوری روشی تحقیقاتی می‌باشد که در آن اجزای کوچکی از بدن جدا و در محیطی مجزا و غنی که سلول‌ها توانایی رشد در آن را داشته باشند، پاساژ داده

تکنولوژی کشت سلولی به عنوان یکی از مهم‌ترین روش‌های مطالعه‌ی آزمایشگاهی، در فهم پایه‌های بیولوژی سلولی و مولکولی نقش مهمی دارد و به صورت روزافزونی در گسترش علوم پایه و بالینی کاربرد دارد. کشت سلولی در علوم پزشکی جهت سنجش اثر

۱- استاد، گروه ایمنی‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- استاد، گروه فارماکولوژی، دانشکده‌ی داروسازی و علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۳- کارشناس ارشد، گروه ایمنی‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

اثر منتخبی از عصاره‌ی بعضی از گیاهان مخروطی بومی ایران بر چرخه ی سلولی رده‌ی سلولی سرطان سینه (MCF-7) انجام گردید.

روش‌ها

رده‌ی سلولی MCF-7 به صورت لاین سلولی نامیرای سرطان سینه‌ی انسانی است که از بانک سلولی انستیتو پاستور ایران خریداری شد و در محیط کشت سلولی Roswell Park Memorial Institute-1640 (RPMI-1640) کشت و پاساژ داده شد. کشت سلولی به صورت معمول در آزمایشگاه کشت سلولی دانشکده‌ی داروسازی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان انجام گردید.

جمع‌آوری، شناسایی و نگهداری گیاهان: حدود یک کیلوگرم از اندام‌های مختلف گیاه شامل سرشاخه‌ی برگ‌دار و میوه‌ی گیاهان مورد نظر از زیستگاه طبیعی آن‌ها در استان گلستان و آذربایجان جمع‌آوری و در هوای آزاد و سایه (دور از نور آفتاب) خشک گردید. عصاره‌ی تام گیاهی از مخروطیان بومی ایران از گونه‌ی *Juniperus (J)*، شامل ۱- *Juniperus polycarpus* (برگ سرشاخه‌ی نر)، ۲- *Juniperus excels* (سرشاخه‌ی برگ‌دار)، ۳- *Juniperus excels* (میوه)، ۴- *Juniperus foetidissima* (برگ نر)، ۵- *Juniperus foetidissima* (برگ ماده)، ۶- *Juniperus depressa* (میوه)، ۷- *Juniperus depressa* (برگ نر)، ۸- *Juniperus communis* (برگ ماده) و *Juniperus communis* (برگ نر) به کار گرفته شد.

فلوسایتومتری: فلوسایتومتری دستگاهی است که توانایی تعیین مشخصات سطح سلولی و یا داخل سلولی را به شرط انجام رنگ‌آمیزی مناسب نمونه‌ها دارد. سلول‌ها به شکل سوسپانسیون برای دستگاه قابل خوانش می‌باشد و رنگ‌آمیزی سلول‌ها باید با رنگ‌های فلورنس ویژه که دارای نور بازتابی قابل شناسایی با استفاده از شناساگرهای حساس سیستم هستند، صورت گیرد. دستگاه فلوسایتومتری دارای یک منبع نوری اغلب لیزری و سیستم جمع‌آوری نور یا اپتیک، سیستم الکترونیک کامپیوتری و نرم‌افزار جهت جمع‌آوری داده‌ها و پردازش آن‌ها می‌باشد.

با این سیستم میزان اندازه‌ی سلول، شکل و ساختار درون سلول، مولکول‌های پروتئین یا قندی و یا هرچه که بتواند به آنتی‌بادی و یا رنگ فلورسانس متصل شود و نیز مقدار و تعداد اجزای سلولی از جمله DNA هسته‌ی سلول را می‌توان اندازه‌گیری نمود. رنگ‌آمیزی پروپیدیوم آبیودید استفاده شده جهت رنگ‌آمیزی DNA هسته‌ی سلول‌ها و سوسپانسیون سلولی حاصل، با استفاده از دستگاه فلوسایتومتر خوانش گردید. نرم‌افزار CellQuest برای ایجاد داده‌ها و هیستوگرام و نرم‌افزار Cylchred جهت آنالیز هیستوگرام استفاده شد.

می‌شوند. این اجزا شامل توده‌ای از یک نوع رده‌ی سلولی در محیط کشت سلولی (Cell culture) می‌باشد (۱-۲).

چرخه‌ی سلولی به چهار مرحله‌ی عمده تقسیم‌بندی می‌گردد. در سلول‌های سوماتیک کروموزوم‌ها طی مرحله‌ی سنتز (S) همانندسازی می‌شوند. پس از عبور از مرحله‌ی G1، سلول فرایند پیچیده‌ی میتوز (M) را شروع می‌کند. در طی میتوز، چرخه‌ی سلولی وارد مرحله‌ی G2 شده، دوباره این مراحل تکرار می‌شود. سلول‌هایی که وارد مرحله‌ی سنتز نمی‌شوند، اما دارای فیزیولوژی سالمی هستند را در اصطلاح، مستقر در فاز G0 می‌دانند.

سلول‌هایی که در مرحله‌ی پیش‌میتوزی قرار دارند، می‌توانند از چرخه خارج شده، برای روزها، هفته‌ها یا در بعضی موارد (به طور مثال سلول‌های عصبی و سلول‌های عدسی چشم) برای تمامی طول عمر ارگانسیم بدون تقسیم باقی بمانند. اغلب سلول‌های پیش‌میتوزی در مهره‌داران می‌توانند در مرحله‌ی G1 از چرخه‌ی سلولی خارج و وارد مرحله‌ای به نام G0 (Gap-0) شوند (۳). سلول‌های سرطانی که موفق به رشد در محیط کشت سلولی شوند و به هر دلیل به صورت Transformed درآمده باشند، با گذشت زمان به صورت سلول‌های با عمر نامحدود (Infinite cell line) در می‌آیند. چنین سلول‌هایی، سلول‌های تغییر یافته و نئوپلاستیک هستند که اغلب اصطلاح نامیرا (Immortal) به آن‌ها اطلاق می‌گردد (۴، ۱).

گروه‌های تحقیقاتی متعددی در سطح جهان اثر مواد مختلف شیمیایی- گیاهی و سنتتیک را بر روی چرخه‌ی سلولی سلول‌های سرطانی بررسی می‌کنند. این‌گونه سنجش‌ها جزء روش‌های معمول تحقیقاتی جهت ارزیابی سلول‌ها و نیز مواد مؤثر بر آن‌ها درآمده است که ذکر حتی تعدادی از آن‌ها در اینجا بدیهی نمی‌نماید. Yan و همکاران اثر عصاره‌ی آبی *Aconitum Cormichaeli*، *Phytolacca acinosa*، *Rhizoma bolbostemmatis* و *Gekko swinhonis guenther* را بر روی سلول‌های Bel-7402، با هدف سنجش اثرات ضد سرطانی آن‌ها مورد سنجش قرار دادند (۵). علاوه بر این، کارهای مشابهی مانند پژوهش Cochrane و همکاران جهت بررسی اثرات ضد سرطانی عصاره‌ی گیاهی *Annona glabra* بر روی رده‌ی سلولی لوسمی (CEM/VLB) انجام گردید و نتایج نشان دهنده‌ی اثرات مثبت آن در توقف فاز G0/G1 چرخه‌ی سلول‌های سرطانی بود (۶). تحقیق Wang و همکاران اثرات عصاره‌ی *Norsolorinic acid* از *Aspergillus nidulans* را بر روی رده‌ی سلولی MCF-7 آدنوکارسینوم سینه گزارش نمود. نتایج حاکی از اثرات ضدپرولیفراسیون سلولی به صورت القای آپوپتوز در سلول‌های سرطانی بود (۷). بنابراین، در راستای مطالعات صورت گرفته و قابل انجام در منطقه‌ی ما، طراحی

شاهد، نشانگر تجمع سلول‌ها در فاز G2/M بود؛ به گونه‌ای که ۴۲/۵۱ درصد سلول‌ها در فاز G2/M تجمع یافت و در مقابل ۱۷/۳۱ درصد در فاز G0/G1 باقی ماند که الگوی اثر Taxol در چرخه‌ی سلولی MCF-7، ۴۸ ساعت پس از تیمار به خوبی قابل مشاهده است. بنابراین، با توجه به مقایسه‌ی الگوی سلول‌های تیمار شده با Taxol و سلول‌های شاهد، چگونگی اثر دارو در این شرایط به صورت تجمع ۷ برابری در فاز G2/M نشان داده شد. به عبارت دیگر، سلول‌ها در فاز G2/M بلوکه شدند و مسیر ورود آن‌ها به فاز G0/G1 مسدود شد. طبق همین الگو، اثر عصاره‌ی برگ J. Polycarpus باعث تغییر الگوی توانایی پرولیفراسیون سلولی گردید؛ به گونه‌ای که حدود ۳ برابر جمعیت سلولی نسبت به شاهد در فاز G2/M توقف کرد و با قدرت مشابهی همچون Taxol، از ورود سلول‌های MCF-7 از فاز G2/M به فاز G0/G1 ممانعت نمود. وجود سلول‌ها در فاز G0/G1 از ۴۵/۸۶ درصد شاهد به ۹/۵۶ درصد تحت تأثیر J. Polycarpus کاهش داشت (جدول ۱).

چنانچه در جدول ۱ مشاهده می‌گردد، تفاوت معنی‌داری در درصد سلول‌های فاز G2/M برای گروه شاهد منفی و عصاره‌ی J. Polycarpus وجود نداشت، اما این عصاره باعث گردید که درصد بیشتری از سلول‌ها از فاز G0/G1 خارج شده، وارد فاز سنتز گردند و به عبارت دیگر، اجزای موجود در این عصاره توانست قدرت سنتز سلولی را افزایش دهد؛ به گونه‌ای که سلول‌ها از ۴۷/۵۲ درصد در گروه شاهد منفی به ۷۲/۳۹ درصد افزایش یافت (شکل‌های ۱ و ۲). اثر عصاره‌ی گیاهی میوه‌ی J. Excelsa بر پرولیفراسیون رده‌ی سلولی MCF-7 طی فازهای چرخه‌ی سلولی در مقایسه با گروه شاهد منفی، نشان دهنده‌ی تجمع ۶ برابری جمعیت سلولی در فاز G2/M بود که این اثر با الگوی اثر Taxol در توقف و تجمع سلول‌ها در فاز G2/M مشابهت داشت. همین الگو مشخص نمود که سنتز تا حد ۲۴/۱۷ درصد،

حاصل داده‌ها به صورت درصد وجود هسته‌های سلول‌ها در فاز سنتز، G0/G1 و G2/M (میتوز) در جمعیت سلولی ثبت گردید. علاوه بر این، هیستوگرام‌های حاصل از آنالیز داده‌ها ارایه شد که نمونه‌هایی از آن‌ها در ادامه آمده است.

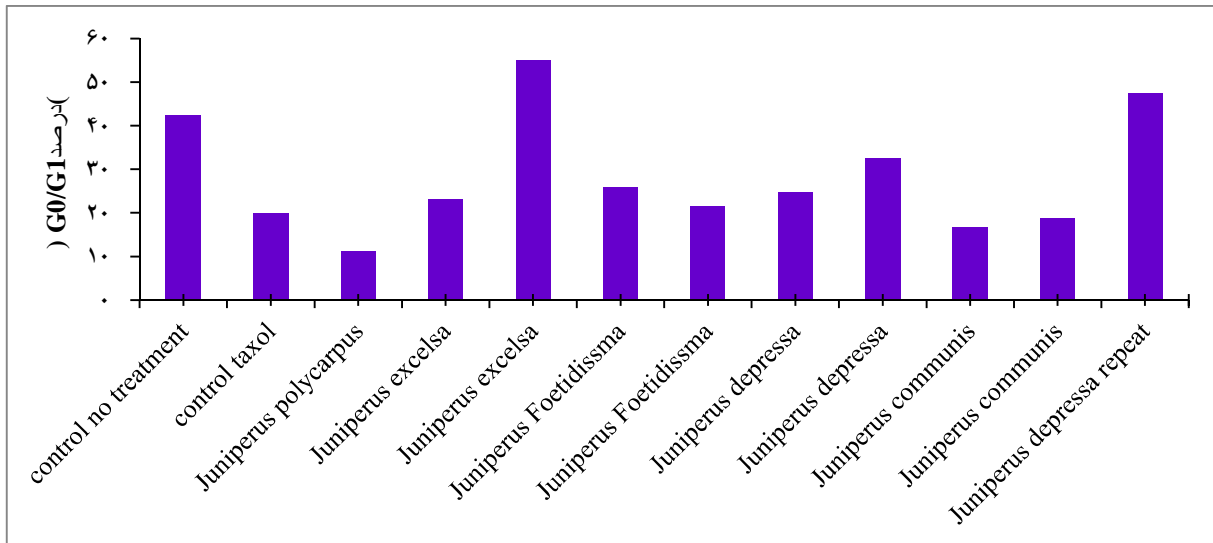
رنگ‌آمیزی سلول‌های MCF-7: کیت پروپیدیوم آیویدید Sigma chemical (DNA con3, propidium Iodide) از شرکت (آلمان) خریداری گردید. پروپیدیوم آیویدید می‌تواند هسته‌ی سلول‌ها را رنگ‌آمیزی کند؛ به گونه‌ای که این رنگ‌آمیزی با استفاده از شناساگرهای دستگاه فلوسایتومتری قابل خوانش باشد. هسته‌های سلولی رنگ‌آمیزی شده از مسیر شناساگرهای الکترونیک دستگاه فلوسایتومتری عبور داده می‌شوند. در این مرحله علاوه بر شمارش هسته‌های عبور یافته، قطر هسته‌های سلولی نیز اندازه‌گیری می‌شوند و پس از عبور ۱۰^۴ سلول از مقابل شناساگرهای دستگاه، اطلاعات جمعیت سلولی عبور یافته به صورت آماری با استفاده از نرم‌افزارهای Cylchred و CellQuest آنالیز می‌گردد. هسته‌ها بر حسب اندازه در روی محور X با صورت ۲n کروموزوم برای فاز G0/G1، ۴n کروموزوم برای فاز میتوز و اندازه‌های بینابینی برای فاز سنتز محاسبه آماری می‌شود و تجزیه و تحلیل حاصل شده به صورت درصد جمعیت سلولی در هر کدام از فازهای چرخه‌ی سلولی تعیین گردید. جمعیت آماری حاصل از خوانش ده هزار سلول همراه با هیستوگرام در فایل‌های اطلاعاتی ضبط و سپس مورد تجزیه و تحلیل و مقایسه قرار می‌گیرد (۸-۱۱). عصاره‌گیری و تهیه‌ی نمونه‌ی خشک طبق روش‌های استاندارد و مرسوم در دانشکده‌ی داروسازی انجام گرفت.

یافته‌ها

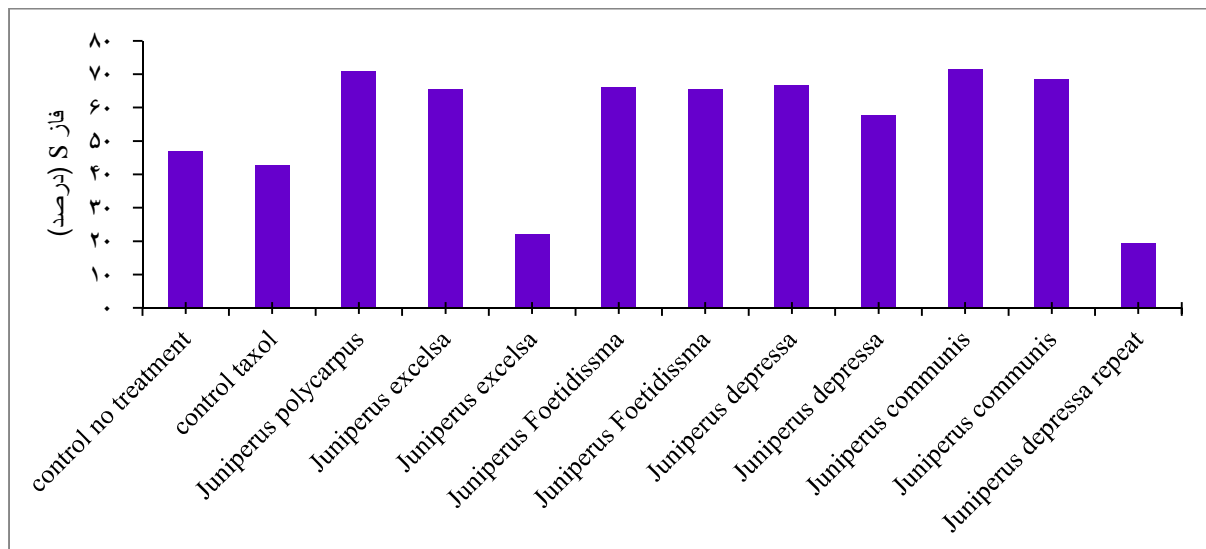
بر اساس داده‌های جدول ۱، قدرت پرولیفراسیون سلولی MCF-7 تحت تأثیر ۱۰ میکرولیتر بر میلی‌لیتر (غلظت 1X) در مقایسه با چاهک

جدول ۱. تیمار سلول‌های رده‌ی MCF-7 با غلظت 1X به مقدار ۱۰ میکرولیتر بر میلی‌لیتر از عصاره‌های گیاهان مخروطی ایران

مراحل چرخه‌ی سلولی			عصاره‌های گیاهی
G2/M (درصد)	سنتز (درصد)	G0/G1 (درصد)	
۶/۶۲	۴۷/۵۲	۴۵/۸۶	گروه شاهد بدون تیمار
۴۲/۵۱	۴۰/۱۸	۱۷/۳۱	شاهد مثبت با Taxol
۲۱/۵۴	۶۸/۹۰	۹/۵۶	برگ سرشاخه‌ی نر Juniperus polycarpus
۷/۳۷	۷۲/۳۹	۲۰/۲۴	سرشاخه‌ی برگ‌دار Juniperus excels
۳۵/۶۹	۲۴/۱۷	۴۰/۱۴	میوه Juniperus excels
۶/۱۲	۷۱/۴۶	۲۲/۴۲	برگ نر Juniperus Foetidissima
۸/۷۷	۷۳/۳۱	۱۷/۹۲	برگ ماده Juniperus Foetidissima
۵/۶۲	۷۸/۴۹	۱۵/۸۹	میوه Juniperus depressa
۵/۳۵	۷۸/۱۸	۱۶/۴۷	برگ نر Juniperus depressa
۸/۳۱	۷۳/۱۳	۱۸/۵۶	برگ ماده Juniperus communis
۶/۴۸	۷۲/۳۸	۲۱/۱۴	برگ نر Juniperus communis
۷/۴۰	۷۰/۸۴	۲۱/۷۶	تکرار برگ نر Juniperus depressa



شکل ۱. اثر عصاره‌های گیاهی با غلظت ۱X در فاز G0/G1 چرخه سلولی رده‌ی MCF-7 سرطان سینه پس از ۴۸ ساعت



شکل ۲. اثر عصاره‌های گیاهی با غلظت ۱X در فاز S چرخه سلولی رده‌ی MCF-7 سرطان سینه پس از ۴۸ ساعت

تأثیر برگ سرشاخه‌ی ماده‌ی *J. Foetidissima* بر چرخه‌ی سلولی رده‌ی MCF-7 سرطان سینه در مقایسه با الگوی شاهد منفی، نشان دهنده‌ی عدم تغییر نسبی در جمعیت سلولی موجود در فاز G2/M بود. علاوه بر این، حرکت سلول‌ها و تحریک سستز سلولی از فاز G0/G1 به فاز سستز، ۷۳/۳۱-نسبت به ۴۷/۵۲ درصد بود و این الگو نشانگر عدم تفاوت در الگوی تحریک چرخه‌ی سلولی بین برگ سرشاخه‌ی نر و برگ سرشاخه‌ی ماده عصاره‌ی گیاه *J. Foetidissima* می‌باشد، اما اثر توقف کنندگی فازهای چرخه‌ی سلولی در این گیاه مشاهده نشد (جدول ۱).

جدول ۱ نشانگر اثر عصاره‌ی گیاهی میوه‌ی *J. Depressa* بر روند پرولیفراسیون سلولی رده‌ی MCF-7 سرطان سینه است؛ به گونه‌ای که

بدون این که تغییر معنی‌داری در فاز G0/G1 ایجاد کند، کاهش نشان داد و بیشتر جمعیت سلولی از فاز سستز به فاز G2/M حرکت پیدا کرد و در فاز G2/M انباشتگی مشاهده شد (جدول ۱).

الگوی تأثیر عصاره‌ی برگ نر *J. Foetidissima* بر چرخه‌ی سلولی MCF-7 در شرایط آزمایش و در مقایسه با الگوی شاهد منفی نشان دهنده‌ی عدم تغییر در فاز G2/M بود، اما همین مقایسه بیانگر حرکت جمعیت سلولی از فاز G0/G1 به فاز سستز (۷۱/۴۶ درصد) می‌باشد (جدول ۱). این یافته حاکی از توانایی تأثیر عصاره‌ی *J. Foetidissima* بر سستز سلول‌های رده‌ی MCF-7 سرطان سینه بود (شکل‌های ۱ و ۲).

پرولیفراسیون سلولی رده‌ی MCF-7 سرطان سینه نیز شبیه اثر عصاره‌ی برگ سرشاخه‌ی ماده‌ی آن بود و تفاوت معنی‌داری میان این دو عصاره وجود نداشت. تکرار اثر عصاره‌ی سرشاخه‌ی برگ نر گیاه *J. Depressa* به عنوان الگوی شاهد و تکرارپذیری آزمایش‌ها در چاهک مستقل انجام گرفت که تفاوت معنی‌داری با مقادیر جمعیت سلولی عصاره‌ی برگ نر *J. communis* مشاهده نشد و این امر بیانگر صحت آزمایش‌ها در چاهک‌های مختلف کشت سلولی می‌باشد.

بر اساس داده‌های جدول ۲، مقادیر عصاره‌های گیاهی مورد مصرف (۰/۱X) ۱۰ میکرولیتر بر میلی‌لیتر بود، اما اثرات اعمال شده بر چرخه‌ی سلولی رده‌ی MCF-7 تا حدودی مشابه غلظت به کار رفته در ۱X مندرج در جدول ۱ می‌باشد و اغلب تفاوت‌های جمعیت سلولی در هر فاز چرخه‌ی سلولی، بیشتر از ۱۰ درصد در هر دو رقت به کار رفته نمی‌باشد. با این حال مشخص گردید که عصاره‌ی میوه *J. Excelsa* قدرت سنتز رده‌ی MCF-7 را از ۴۶/۸۱ درصد در الگوی شاهد به ۲۱/۹۷ درصد تقلیل داد و نیز همین عصاره توانست ۲۳/۱۱ درصد جمعیت سلولی را در فاز G2/M بلوکه کند که از لحاظ آماری حدود ۳ برابر میزان الگوی شاهد منفی بود.

شکل‌های ۱ و ۲ به عنوان نماینده‌ی تأثیر غلظتی از عصاره‌های مختلف در تغییر تجمع سلولی فاز سنتز و G0/G1 نشان داده شده است و کاهش توانایی سنتز در شکل ۲ (بیشتر از ۵۰ درصد) به خوبی نمایانگر تأثیر عصاره بر سنتز DNA سلول‌های MCF-7 می‌باشد. علاوه بر این، شکل ۳ هیستوگرام حاصل از نمونه‌ی سلول‌های تحت آزمایش در مراحل مختلف چرخه‌ی سلولی را نشان می‌دهد.

تغییری در جمعیت سلولی فاز G2/M در مقایسه با الگوی شاهد منفی مشاهده نگردید. علاوه بر این، حرکت جمعیت سلولی از فاز G0/G1 به فاز سنتز و افزایش جمعیت سلولی در فاز سنتز در مقایسه با الگوی شاهد منفی مشاهده شد. بنابراین، این عصاره نیز توانایی متوقف نمودن پرولیفراسیون سلولی را ندارد (شکل‌های ۱ و ۲).

یافته‌های جدول ۱ نشان دهنده‌ی تأثیر عصاره‌ی برگ سرشاخه‌ی گیاه نر *J. Depressa* بر پرولیفراسیون سلولی رده‌ی MCF-7 سرطان سینه می‌باشد. در این تجربه، تغییری در جمعیت سلولی موجود در فاز G2/M نسبت به الگوی شاهد منفی و نیز با عصاره‌ی میوه همین گیاه ایجاد نشد. علاوه بر این، ترکیبات موجود در عصاره‌ی برگ سرشاخه‌ی نر این گیاه توانست شیفت جمعیت سلولی را در G0/G1 ایجاد کند و به فاز سنتز سلولی روانه سازد که مقادیر جمعیت سلولی نسبت به الگوی شاهد منفی (۴۷/۵۲ درصد)، ۷۸/۱۸ درصد افزایش داشت. بنابراین، ترکیبات این عصاره توانست به پرولیفراسیون سلولی رده‌ی MCF-7 در جهت افزایش سنتز کمک نماید.

ویژگی‌های اثر عصاره‌ی برگ سرشاخه‌ی ماده‌ی *J. Communis* بر پرولیفراسیون سلولی رده‌ی MCF-7 سرطان سینه، نشانگر عدم تغییر جمعیت سلولی در فاز G2/M نسبت به الگوی شاهد منفی می‌باشد. همچنین، حرکت جمعیت سلولی از فاز G0/G1 به فاز سنتز تا حد ۷۳/۱۳ درصد مشاهده شد که این یافته نمایانگر تأثیر بر تحریک پرولیفراسیون رده‌ی سلولی MCF-7 و افزایش جمعیت سلولی در فاز سنتز بود (جدول ۱).

تأثیر عصاره‌ی سرشاخه‌ی برگ گیاه نر *J. Communis* بر

جدول ۲. تیمار سلول‌های رده‌ی MCF-7 با غلظت ۰/۱X به مقدار ۱۰ میکرولیتر بر میلی‌لیتر از عصاره‌های گیاهان مخروطی ایران

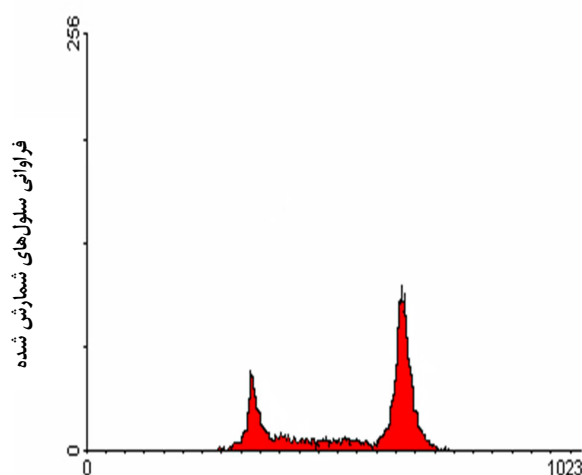
مراحل چرخه‌ی سلولی			عصاره‌های گیاهی
G2M (درصد)	S (درصد)	G0/G1 (درصد)	
۱۰/۸۱	۴۶/۸۱	۴۲/۳۸	شاهد بدون تیمار
۳۷/۵۸	۴۲/۶۳	۱۹/۷۹	شاهد مثبت با Taxol
۱۷/۷۴	۷۱/۰۲	۱۱/۲۴	برگ سرشاخه‌ی نر <i>Juniperus polycarpus</i>
۱۱/۳۷	۶۵/۴۶	۲۳/۱۷	سرشاخه‌ی برگ‌دار <i>Juniperus excelsa</i>
۲۳/۱۱	۲۱/۹۷	۵۴/۹۲	میوه <i>Juniperus excelsa</i>
۸/۱۸	۶۶/۰۴	۲۵/۷۸	برگ نر <i>Juniperus Foetidissima</i>
۰۰/۱۳	۶۵/۴۳	۲۱/۵۷	برگ ماده <i>Juniperus Foetidissima</i>
۸/۸۴	۶۶/۵۶	۲۴/۶۰	میوه <i>Juniperus depressa</i>
۹/۸۳	۵۷/۶۱	۳۲/۵۶	برگ نر <i>Juniperus depressa</i>
۱۱/۸۵	۷۱/۴۷	۱۶/۶۸	برگ ماده <i>Juniperus communis</i>
۱۲/۷۲	۶۸/۵۶	۱۸/۷۲	برگ نر <i>Juniperus communis</i>
۳۳/۳۲	۱۹/۲۷	۴۷/۴۱	تکرار میوه <i>Juniperus depressa</i>

تحقیق Yan و همکاران نشان داد که عصاره‌های مورد استفاده دارای اثرات توکسیک در غلظت‌های بالا هستند و در غلظت‌های کاهش یافته قدرت توقف پرولیفراسیون سلولی را دارند. علاوه بر این، در مطالعه‌ی آنان عوامل دیگری از سلول‌های Bel-7402 مانند قدرت رشد و تکثیر، تمایز و میزان آپوپتوز تحت تأثیر عصاره‌های مورد آزمایش بررسی گردید (۵) که از این لحاظ با تحقیق حاضر دارای وجوه متفاوتی می‌باشد؛ چرا که در تحقیق حاضر فقط به بررسی مقادیر جمعیت سلولی در فازهای چرخه‌ی سلولی و سنجش با فلوسایتومتری پرداخته شد.

کشت سلول‌های سرطانی و سنجش مؤثر بودن دارو یا عصاره‌ی گیاهی نه تنها از لحاظ چرخه‌ی سلولی مورد بررسی قرار می‌گیرد، بلکه آزمون‌های متعدد دیگری نیز در سلول‌ها و یا تحت تأثیر مواد متفاوت ارزیابی می‌شود. در مطالعه‌ی Yan و همکاران، میزان آلبومین و آلفا۲-میکروگلوبولین حاصل از رشد سلول‌های هپاتوسلولار کارسینومای Bel-7402 تحت اثر غلظت‌های متفاوت عصاره‌ها انجام گردید (۵) که از این لحاظ می‌توان رده‌های سلول‌های سرطانی تحت آزمایش را برای کارهای مشابه فرآورده‌های متابولیک بررسی نمود. تحقیق حاضر به دلیل این که هم به صورت کار مقدماتی بود و هم به دنبال غربالگری عصاره انجام گرفت، فاقد بررسی متابولیک‌های سلولی بود. بنابراین، می‌توان برای فعالیت‌های دیگر، هم سلول‌های سرطانی متعددی را کاندید بررسی نمود و هم به جنبه‌ی متابولیت‌ها و جنبه‌های دیگر بیولوژی سلولی پرداخت.

در تحقیق Andalib و همکاران اثر سیتوکین‌های IGF-2، IFN γ (Interferon- γ)، IFN α ، (Insulin-like growth factor-2) TNF α ، (Transforming growth factor-beta 2) TGF β 2، IL-6، (Interleukin-6) IL-1b بر چرخه‌ی سلولی سلول‌های سرطانی ملانوما بررسی گردید (۱۲). در مطالعه‌ی آنان مشخص شد که سیتوکین‌های مورد مطالعه با این که به صورت نوترکیب تهیه شده‌اند، اما اثر آن‌ها در غلظت‌های متفاوت بر چرخه‌ی سلولی سلول‌های سرطانی مورد مطالعه به صورت متمایزی تفاوت دارد. برای مثال اثر IL-6 و TGF β 2 در کاهش توانایی سلولی در مرحله‌ی سنتز DNA نشان داده شد. علاوه بر این، در نظر گرفتن سایر ویژگی‌های بیولوژیک مواد مؤثر بر سلول‌های تحت آزمایش از ضروریات روش علمی به حوادث زیستی سلولی به غیر از بررسی چرخه‌ی سلولی می‌باشد.

همان‌گونه که در مقدمه اشاره گردید، همواره تحقیقات زیادی در زمینه‌ی بررسی اثر عصاره‌ها و مواد شیمیایی یا سنتتیک بر روی انواع مختلفی از سلول‌های سرطانی انجام شده است؛ به طور مثال اثر ضد سرطانی عصاره‌های الکلی گیاه *Annona glabra* که یک گیاه خودرو



تجمع سلول‌ها در فازهای مختلف چرخه‌ی سلولی G0/G1-S- G2/M

شکل ۳. تجمع سلول‌های سرطانی رده‌ی MCF-7 در فازهای مختلف چرخه‌ی سلولی

فراوانی سلول‌ها با استفاده از نرم‌افزار Cylchred و پس از تجزیه و تحلیل داده‌ها با نرم‌افزار CellQuest حاصل از فلوسایتومتری، انجام گردید.

تعداد 1×10^5 سلول قرار داده شد و تا رشد Subconfluent کامل گردید و سپس عصاره‌ی گیاهی با غلظت ۱X به مقدار ۱۰ میکرولیتر بر میلی‌لیتر به محیط کشت RPMI اضافه شد. پس از ۴۸ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد، سلول‌ها جمع‌آوری و حاصل هر چاهک در یک لوله‌ی آزمایش مستقل با پروپیدیوم آیدیدید رنگ‌آمیزی گردید. طبق دستورالعمل کیت و با استفاده از دستگاه فلوسایتومتری، در هر خوانش 10^4 سلول مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. درصد سلول‌ها در هر کدام از فازهای چرخه‌ی سلولی تحت تأثیر عصاره‌ی گیاهی ۴۸ ساعت پس از تیمار در جداول ۱ و ۲ نشان داده شده است.

بحث

به دلیل این که عصاره‌های مصرف شده در بررسی حاضر به گیاهان مخروطی ناحیه‌ی شمال ایران اختصاص دارد و همه‌ی مراحل عصاره‌گیری و تعیین غلظت در بوم و ناحیه‌ی مورد تحقیق انجام گرفت، بنابراین چنین مطالعه‌ای ویژه می‌باشد و فقط می‌توان به صورت کلی تأثیر عصاره‌های مختلف گیاهی و یا غیر گیاهی را که بر سلول‌های سرطانی تأثیر داشته‌اند، مقایسه نمود. به لحاظ رده‌ی سلولی مورد نظر (MCF-7)، از آن‌جایی که تحقیقات مشابه بر روی سلول‌های متفاوت با منشأ سرطان‌های مختلف انجام شده است، مقایسه‌ی چنین مطالعاتی می‌تواند با رده‌های سلول‌های سرطانی دیگر نیز انجام گیرد.

سلول‌های رده‌ی H661 سرطان ریه‌ی انسان را در فاز سنتز چرخه‌ی سلولی متوقف می‌نماید (۱۵). Fishbein و همکاران نیز در مطالعه‌ی خود اثر عصاره‌ی Asian ginseng را بر پرولیفراسیون رده‌ی سلولی HCT-116 سرطان کولورکتال بررسی کردند و نشان دادند که سلول‌ها در فاز G1 چرخه‌ی سلولی متوقف می‌گردند و عصاره‌ی مذکور به عنوان آدجوانت‌تراپی در درمان سرطان‌های کولورکتال معرفی گردید (۱۶). تحقیق Xiao و همکاران اثر عصاره‌ی گیاه Nispex را بر روی پرولیفراسیون سلول‌های سرطان انسان گزارش نمود (۱۷). نتایج مطالعه‌ی Gridling و همکاران، گزارش اثر دو گیاه Guatemala Pluchea odorata و Phlebodium را منتشر کرد. تحقیقات آن‌ها نشان داد که این عصاره‌ها می‌توانند سلول‌های رده‌ی HL-60 و MCF-7 را در فاز G2/M متوقف نمایند. علاوه بر این، در بررسی جامع آن‌ها سایر فاکتورهای سلولی مانند آنزیم‌های مؤثر در چرخه‌ی سلولی مثل سیکلین‌ها و مراحل کنترل سلولی و پروتئین‌های مؤثر در چرخه‌ی سلولی نیز بررسی گردید (۱۸).

در تحقیقات پیشرفته‌ای که امروزه انجام می‌گیرد، پس از یافتن اثر ضد سرطانی یک ترکیب خاص، بررسی ترکیب ویژه‌ی واجد ماده‌ی مؤثر ضروری به نظر می‌رسد و چنین فعالیتی می‌تواند مرحله‌ی بعدی بر مبنای اطلاعات حاصل در بررسی باشد. چنانچه در تحقیق Wang و همکاران، علاوه بر اثرات ضد پرولیفراسیون سلولی اسید Norsolorinic حاصل از قارچ *Aspergillus nidulans* بر رده‌ی سلولی MCF-7 سرطان سینه، تأثیر آن بر چرخه‌ی سلولی، میزان توانایی مرگ برنامه‌ریزی شده‌ی سلولی و گیرنده‌های القای مرگ سلولی نیز مورد بررسی قرار گرفت (۷). از لحاظ اثر عصاره‌ی قارچی مذکور بر سلول‌های رده‌ی MCF-7 در جنبه‌ی سنجش پرولیفراسیون سلولی، مطالعه‌ی Wang و همکاران با پروژه حاضر وجوه مشترکی داشت، اما از نظر تعیین دقیق‌تر و تخلیص عصاره‌ی مورد نظر و نیز بررسی جنبه‌های دیگر بیولوژیک سلول‌های MCF-7، انجام تحقیقات پیشرفته‌تر ضروری می‌باشد. همچنین، لازم است در مطالعات بعدی، گسترش مرزهای تحقیقاتی در این زمینه مد نظر قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل طرح پژوهشی شماره‌ی ۸۰۰۱۶ مصوب معاونت محترم پژوهشی و فناوری دانشگاه علوم پزشکی اصفهان می‌باشد. بدین وسیله از حمایت‌های این معاونت سپاسگزار می‌گردم.

در مناطق گرمسیری آمریکا و آسیا است، بر روی رده‌های سلولی لوسمی انسان (CEM/NLB) بررسی گردید (۶). نتایج نشان داد که عصاره‌ها در یک روند وابسته به غلظت، توانایی ایجاد مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده را دارند. بنابراین، ویژگی ضد پرولیفراسیون سلولی آن‌ها در فاز G0/G1 چرخه‌ی سلول به صورت توقف سلولی در این مرحله گزارش شد. در بررسی حاضر اثر عصاره‌ی میوه‌ی J. Excels در کاهش درصد سلول‌های مرحله‌ی سنتز به خوبی نشان داده شد (شکل‌های ۱ و ۲ و جداول ۱ و ۲).

در مواردی که ترکیبات گیاهی به صورت عصاره و مرکب از کلیه‌ی مواد متشکله‌ی بافت گیاهی در زمان استحصال حاصل شده است، تأثیر آن به صورت کلی قابل بیان می‌باشد و ممکن است جهت پی‌گیری و مشخص نمودن ترکیب مؤثر در مواد ایجاد شده، تحقیقات بیشتری جهت آنالیز و شناسایی انجام شود و احتمال این امر نیز وجود دارد که ماده‌ی مؤثر مورد شناسایی در سیر تکامل بیولوژیک گیاه، در سایر اندام‌ها نیز ظاهر شود و یا موارد مشابه در گیاهان دیگری نیز وجود داشته باشد. به همین دلیل، منبع مورد آزمایش مانند عصاره‌ی میوه‌ی J. Excels به عنوان ماده‌ی ضد پرولیفراسیون سلولی رده‌ی MCF-7 بیان می‌گردد (شکل ۲). همان‌گونه که Cochrane و همکاران عصاره‌ی الکلی دانه‌ی *Annona glabra* را به عنوان منبع مواد متشکله‌ی داروی ضد سرطان لوسمی معرفی نمودند (۶)، این موضوع می‌تواند یک یافته‌ی قابل تعمیم برای سایر تحقیقات مشابه نیز باشد.

در مطالعه‌ی نوروزی و یزدان‌پرست، اثر عصاره‌ی *Dendrostellera lessertii* بر فعالیت پرولیفراسیون سلولی سلول‌های سرطانی چندین رده‌ی سلولی گزارش گردید. آنالیز فلوسایتومتری حاصل از تحقیقات آنان نشان داد که فاز G1 چرخه‌ی سلولی تحت تأثیر عصاره‌ی خالص جدا شده متوقف می‌شود (۱۳). نتایج تحقیق Mathur و همکاران اثر ضد سرطانی عصاره‌ی *Calotropis procera* را بر روی رده‌ی سلولی Hep2 نشان داد. بررسی فلوسایتومتری سلول‌ها در بررسی آنان حاکی از آن بود که عصاره‌ی مذکور، سلول‌ها را در فاز سنتز متوقف می‌کند و مانع ورود به فاز G2/M می‌شود (۱۴). بنابراین، با این که سلول‌ها و عصاره‌ی مورد استفاده در مطالعه‌ی آن‌ها با تحقیق حاضر متفاوت می‌باشد، اما روش بررسی چرخه‌ی سلولی با استفاده از فلوسایتومتری می‌تواند در زمینه‌ی تعمیم و گسترش نتایج حاصل تا حصول تهیه‌ی عصاره‌ی مؤثر به عنوان داروی کاربردی استفاده گردد.

Wu و همکاران به این نتیجه رسیدند که عصاره‌ی SCEPP-5،

References

1. Castell JV, Gomez-Lechon MJ. In vitro methods in pharmaceutical research. New York, NY: Academic Press; 1996. p. 1-15, 33-55.
2. Freshney RI. Animal cell culture: A practical

- approach. 2nd ed. Oxford, UK: IRL press; 1994. p. 263-300.
3. Lodish H, Berk A, Zipursky SL, Matsudaira P, Baltimore D, Darnell J. *Molecular cell biology*. 5th ed. New York, NY: WH Freeman and Company; 2004. p. 883-96.
 4. Davis J. *Basic cell culture: A practical approach*. Oxford, UK: Oxford University Press; 1994. p. 57-22.
 5. Yan ZC, Chen D, Wu XZ, Xie GR, Ba Y, Yan Z. Effects of aqueous extracts of *Aconitum carmichaeli*, *Rhizoma bolbostemmatidis*, *Phytolacca acinosa*, *Panax notoginseng* and *Gekko swinhonis* Guenther on Bel-7402 cells. *World J Gastroenterol* 2007; 13(19): 2743-6.
 6. Cochrane CB, Nair PK, Melnick SJ, Resek AP, Ramachandran C. Anticancer effects of *Annona glabra* plant extracts in human leukemia cell lines. *Anticancer Res* 2008; 28(2A): 965-71.
 7. Wang CC, Chiang YM, Kuo PL, Chang JK, Hsu YL. Norsolorinic acid from *Aspergillus nidulans* inhibits the proliferation of human breast adenocarcinoma MCF-7 cells via Fas-mediated pathway. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2008; 102(6): 491-7.
 8. Wang CZ, Xie JT, Fishbein A, Aung HH, He H, Mehendale SR, et al. Antiproliferative effects of different plant parts of *Panax notoginseng* on SW480 human colorectal cancer cells. *Phytother Res* 2009; 23(1): 6-13.
 9. Bowen IH, Lewis JR. Rutaceous constituents. Part 10: A phytochemical and antitumour survey of Malayan rutaceous plants. *Planta Med* 1978; 34(2): 129-34.
 10. Bhakuni DS, Bittner M, Marticorena C, Silva M, Weldt E, Hoeneisen M. Screening of Chilean plants for anticancer activity. I. *Lloydia* 1976; 39(4): 225-43.
 11. Handa SS, Kinghorn AD, Cordell GA, Farnsworth NR. Plant anticancer agents XXXV. Constituents of *Soulamea soulameoides*. *J Nat Prod* 1983; 46(3): 359-64.
 12. Andalib AR, Lawry J, Burns BJ, Murray AK, Herlyn M, Rees RC. Cytokine and growth factor modulation of cell cycle events in human melanoma cell lines. *Med J I.R.* Iran 1998 12 (3): 249-57.
 13. Nowrouzi A, Yazdanparast R. G1 phase arrest and apoptosis induction in human thyroid cancer cell line Thr.C1.PI33 by 3-hydrogenkwadaphnin isolated from *Dendrostellera lessertii*. *Iran Biomed J* 2007; 11(4): 215-21.
 14. Mathur R, Gupta SK, Mathur SR, Velpandian T. Anti-tumor studies with extracts of *Calotropis procera* (Ait.) R.Br. root employing Hep2 cells and their possible mechanism of action. *Indian J Exp Biol* 2009; 47(5): 343-8.
 15. Wu SJ, Chang SP, Lin DL, Wang SS, Hou FF, Ng LT. Supercritical carbon dioxide extract of *Physalis peruviana* induced cell cycle arrest and apoptosis in human lung cancer H661 cells. *Food Chem Toxicol* 2009; 47(6): 1132-8.
 16. Fishbein AB, Wang CZ, Li XL, Mehendale SR, Sun S, Aung HH, et al. Asian ginseng enhances the anti-proliferative effect of 5-fluorouracil on human colorectal cancer: comparison between white and red ginseng. *Arch Pharm Res* 2009; 32(4): 505-13.
 17. Xiao YJ, Chen YZ, Chen BH. [Selective effect of nispex in inhibiting human cancer cell proliferation and inducing cell apoptosis]. *Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi* 2009; 29(2): 148-52.
 18. Gridling M, Stark N, Madlener S, Lackner A, Popescu R, Benedek B, et al. In vitro anti-cancer activity of two ethno-pharmacological healing plants from Guatemala *Pluchea odorata* and *Phlebodium decumanum*. *Int J Oncol* 2009; 34(4): 1117-28.

The Effect of Persian Juniperus Excelsa Extracts on Cell-Cycle Phases of MCF-7 Breast Cancer Cell Line

Alireza Andalib PhD¹, Abbas Jafarian-Dehkordi PhD², Raheleh Shokouhi-Shourmasti MSc³, Shirin Abdolah-Kohpayeh-Esfahani MSc³

Original Article

Abstract

Background: The cell cycle includes four stages in which, DNA content become double during synthesis process; then, the mitosis happens after GAP2 phases, and Gap1 starts again. Cancer cells are immortal and their cell cycle phases go on repeatedly in tissue culture media. It was proposed that adding several plant extracts in cell culture media has modulation effect in cell cycle phases.

Methods: The following plant extracts were derived from native Persian Juniperus spp. from north and north-west of Iran and were used with different concentration: 1- Juniperus polycarpus leaves, 2- Juniperus excels branches, 3- Juniperus excels fruits, 4- Juniperus foetidissima leaves, 5- Juniperus foetidissima leaves, 6- Juniperus depressa fruits, 7- Juniperus depressa leaves, 8- Juniperus communis and 9- Juniperus communis leaves. The breast cancer cell line, MCF-7, was cultured in media and the plant extracts were added in tissue culture wells; after incubation time; the cells were harvested and treated with Propidium Iodide according to standard protocol. The stained nucleus/DNA contents were measured via flow cytometry and using CellQuest and Cylchred softwares for analyzing.

Findings: Different patterns of cell cycle phases were obtained after treating with the extract concentrations; for instance, 45.86% of untreated control cells were in G0/G1 phase, 47.52% in synthesis phase and 6.62% in G2/M phase. Treating with taxol (a drug that is mitotic inhibitor), as positive control, tended to 17.31% in G0/G1 phase, 40.18% in synthesis phase and 42.51% in G2/M phase. The most effective extract was from J. Excelsa fruit that reduced the synthesis phase to 21.97% and blocked 23.11% of cell population in G2/M phase. Statistical analysis showed a significant inhibitory effect for the J. Excelsa fruit extract in MCF-7 cell line ($P = 0.0001$).

Conclusion: The Persian junipers excelsa extracts are effective on tumor cells proliferation which could be used for screening the anticancer agents.

Keywords: MCF-7, Persian Juniperus excels, Plant extracts, Flow cytometry, Cell cycle

Citation: Andalib A, Jafarian-Dehkordi A, Shokouhi-Shourmasti R, Abdolah-Kohpayeh-Esfahani Sh. **The Effect of Persian Juniperus Excelsa Extracts on Cell-Cycle Phases of MCF-7 Breast Cancer Cell Line.** J Isfahan Med Sch 2015; 33(360): 2004-12

1- Professor, Department of Immunology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

2- Professor, Department of Pharmacology, School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

3- Department of Immunology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

Corresponding Author: Alireza Andalib PhD, Email: andalib@med.mui.ac.ir

بررسی میزان اشعه X دریافتی پرسنل بیهوشی در هنگام استفاده از فلورسکوپی در اعمال جراحی اورتوپدی

دکتر داریوش مرادی فارسانی^۱، دکتر خسرو نقیبی^۲، دکتر کامران منتظری^۳، میترا لطف الهی^۴

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: نظر به گسترش روزافزون استفاده از رادیوگرافی و دستگاه رادیوگرافی C-Arm در اتاق‌های عمل ارتوپدی و میزان پرتوگیری قابل توجه متخصصین ارتوپدی و گاهی متخصصین بیهوشی، بررسی میزان اشعه جذبی این افراد، کادر آموزشی و پرسنل همراه آن‌ها و مقایسه آن با حد ذرات تعیین شده توسط کمیته بین‌المللی محافظت در برابر اشعه (International Commission on Radiological Protection یا ICRP) امری ضروری به نظر می‌رسد.

روش‌ها: به منظور تعیین دز جذبی، متخصصین ارتوپدی و بیهوشی و دستیاران و پرسنل همراه آن‌ها در اتاق عمل بیمارستان الزهرای (س) اصفهان، مورد بررسی قرار گرفتند. جهت تعیین میزان دز جذبی، از دزیمترهای ترمولومینسانس $CaSO_4$ کالری، که دارای دقت و حساسیت زیادی هستند، استفاده گردید. بدین منظور، برای هر شخص سه عدد دزیمتر حساس به حرارت (TLD یا Thermo luminescence dosimeter) یکی در محل گردن و در روی تیروئید، دیگری در ناحیه سینه و سومی در ناحیه گنادها به مدت یک ماه نسب گردید و میانگین دز جذبی در این سه محل حساس بدن به دست آمد. جهت خواندن دزیمترها از دستگاه خواننده ترمولومینسانس (Solaro2A TLD Reader) استفاده شد.

یافته‌ها: میانگین دز دریافتی ماهانه برای متخصص ارتوپدی در محل‌های مختلف متفاوت به دست آمد که در تمام موارد بیشتر از میزان جذبی توسط تیم بیهوشی بود. میانگین دز دریافتی متخصص ارتوپدی ۲۴، دستیار وی ۲۶، متخصص بیهوشی ۱۶ و دستیار بیهوشی ۱۱ میلی‌راد بود. میانگین دز دریافتی در هر عمل جراحی برای گروه ارتوپدی در محل تیروئید و در محل گنادها همواره بیشتر از بقیه افراد بود. با استفاده از آزمون t و با احتمال ۹۰ درصد، می‌توان دریافت که میانگین دز دریافتی ماهانه و دز در هر عمل ارتوپدی در محل تیروئید در هر فرد مورد بررسی، بیشتر از دز دریافتی در محل گنادها بوده است.

نتیجه‌گیری: میانگین دز دریافتی ماهانه در هر عمل جراحی ارتوپدی در متخصص ارتوپدی و دستیار وی، بیشتر از سایر شرکت کنندگان در مطالعه بوده است.

واژگان کلیدی: رادیوگرافی، C-Arm، دزیمتری ترمولومینسانس، اشعه دریافتی

ارجاع: مرادی فارسانی داریوش، نقیبی خسرو، منتظری کامران، لطف الهی میترا. بررسی میزان اشعه X دریافتی پرسنل بیهوشی در هنگام استفاده از

فلورسکوپی در اعمال جراحی اورتوپدی در بیمارستان الزهرای (س) اصفهان. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۴؛ ۳۳ (۳۶۰): ۲۰۱۸-۲۰۱۳

مقدمه

با شناخت پرتوهای X و γ توسط بشر، استفاده از این امواج الکترومغناطیس نافذ به سرعت در زمینه‌های مختلف پزشکی گسترش یافته است؛ به طوری که در بسیاری از روش‌های تشخیصی و درمانی شاهد به کارگیری روزافزون این امواج هستیم (۱).

به طور کلی، در صورتی که تفاوت در میزان جذب تشعشع قسمت‌ها حداقل ۲ درصد باشد، به راحتی توسط رادیوگرافی تشخیص داده می‌شود (۲). بر این اساس، امروزه استفاده از پرتوهای یون‌ساز به امری

اجتناب ناپذیر مبدل شده، اما از طرفی، مضرات این نوع پرتوها بر روی بافت‌های زنده به اثبات رسیده است. ایجاد تغییرات در ژن‌ها در اثر آسیب سلولی و تکثیر سلولی با ژن‌های تغییر یافته، موجب افزایش ابتلا به سرطان، امکان تولد نوزاد با اختلالات ژنی و بروز نارسایی‌های ارثی نظیر عوارض این تشعشع بیش از حد مجاز می‌باشد (۳).

اگر در به کارگیری این پرتوها بهترین شرایط کنترلی و حفاظتی نیز اعمال شود، باز هم پرسنل و پرتوکاران در معرض تابش مقداری از این پرتوها خواهند بود؛ یعنی هرگز نمی‌توان به طور ۱۰۰ درصد

۱- استادیار. گروه بیهوشی و مراقبت‌های ویژه، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- دانشیار، گروه بیهوشی و مراقبت‌های ویژه، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۳- استاد، گروه بیهوشی و مراقبت‌های ویژه، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۴- دانشجوی پزشکی، دانشکده پزشکی و کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

(National Council on Radiation Protection and Measurements) وظیفه‌ی اصلی وضع استاندارد از طریق انتشاراتی متفاوت با ICRP را بر عهده دارد. یکی از آژانس‌هایی که در امریکا دارای قدرت جهت وضع قوانین می‌باشد، NRC (Nuclear Regulatory Commission) است (۱۹-۲۲).

میزان اشعه‌ی دریافتی پرسنل نباید بیشتر از ۱۰۰ میکروسیورت و سالیانه بیشتر از ۵۰ میلی‌سیورت باشد. دریافت بیشتر از این مقادیر، احتمال بروز اختلالات ژنتیکی و سرطان را افزایش می‌دهد (۲۶-۲۳). در مطالعه‌ای که در انگلستان در خصوص میزان اشعه‌ی دریافتی متخصصین بیهوشی انجام گرفت، اگر چه شرکت کنندگان در معرض مقادیر فراوانی از اشعه حتی تا ۱۰۹ میکروسیورت نیز بودند، اما متوسط اشعه‌ی جذبی آن‌ها، ۱۶ میکروسیورت گزارش گردید. میزان اشعه‌ی جذبی، رابطه‌ی مستقیمی با مدت زمان تماس و فاصله با منبع اشعه دارد (۲۷-۳۰).

متخصصین بیهوشی و پرسنل همراه همواره در معرض اشعه‌ی X ناشی از C-Arm و گرافی‌های کنترلی حین اعمال جراحی می‌باشند و با وجود استفاده از وسایل محافظتی، همواره از تابش پرتوهای اشعه‌ی X نگران هستند. از آن جا که این نگرانی و گاهی دوری آن‌ها از اشعه و بیماران، ممکن است مخاطراتی را متوجه بیمار نماید، این مطالعه‌ی توصیفی با هدف اندازه‌گیری میزان اشعه‌ی X دریافتی با استفاده از دزیمتر در افراد مختلف تیم جراحی و بیهوشی اعم از جراح، متخصص بیهوشی، دستیاران و پرسنل جراحی و بیهوشی و مقایسه‌ی این مقادیر با میزان مجاز استاندارد انجام شد.

روش‌ها

این مطالعه، یک مطالعه‌ی توصیفی بود که در مرکز آموزشی-درمانی الزهراء (س) اصفهان به انجام رسید. جامعه‌ی آماری مورد مطالعه، تعداد ۱۰ نفر از تیم درمانی اتاق عمل (شامل ۲ نفر متخصص ارتوپدی و بیهوشی، ۳ نفر دستیار و ۵ نفر پرسنل جراحی و بیهوشی) بودند که موافقت آنان برای شرکت در مطالعه، به صورت مکتوب اخذ شد. مدت عمل جراحی ۳-۲ ساعت در نظر گرفته شد و در صورت طولانی شدن مدت عمل (بیش از ۳ ساعت) و تغییر روش جراحی و یا عدم امکان ادامه‌ی حضور فرد در هنگام عمل جراحی، فرد از مطالعه در آن روز حذف گردید.

حجم نمونه‌ی مورد نیاز مطالعه با استفاده از فرمول برآورد حجم نمونه جهت مقایسه‌ی میانگین‌ها و در نظر گرفتن سطح اطمینان ۹۵ درصد، توان آزمون ۸۰ درصد، انحراف معیار میزان اشعه‌ی دریافتی ۱/۱۷ و حداقل تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها به میزان ۰/۸، تعداد ۴۲ مورد در هر فرد برآورد گردید.

جلوی نفوذ این پرتوها را گرفت؛ بلکه می‌توان متناسب با زمان تابش و شدت آن و همچنین فاصله با منبع اشعه، محافظ‌هایی طراحی نمود تا دز دریافتی پرسنل و پرتوکاران حداقل در حد مجاز پرتوگیری شغلی، کنترل شود (۴). به طور کلی، پرتوگیری باید زمانی انجام پذیرد که منفعت آن مضرات تابش‌های یونیزان را تحت‌الشعاع قرار دهد. برای نمونه، اختصاص هزینه‌ی لازم جهت محدود نمودن دز دریافتی مقرون به صرفه باشد (در غیر این صورت نباید پرتوگیری انجام شود). تنها در این صورت پرتوگیری موجه خواهد بود؛ چرا که بر اساس قوانین حفاظت در برابر پرتوهای یونیزان، تنها توجیه پرتوگیری بیش از حد مجاز، نجات زندگی می‌باشد؛ از این رو، کلیه‌ی تابش‌هایی که هدف آن‌ها نجات زندگی نیست، باید کنترل شوند و تابش‌گیری در آن‌ها حداقل در حد تابش‌گیری شغلی تعیین شود (۵). یکی از عوامل زیان‌آور محیط کار، پرتوهای یون‌ساز می‌باشند که می‌توانند سبب ایجاد آسیب‌های جدی و برگشت ناپذیر و غیر قابل درمان، در افراد درگیر با پرتوها و یا بیماران مراجعه کننده جهت تشخیص و درمان شوند. تماس با مقدار بیش از حد مجاز پرتوهای یون‌ساز، می‌تواند اثراتی روی دستگاه خون‌ساز، دستگاه گوارش، سیستم اعصاب مرکزی و در نهایت کل بدن بگذارد یا ممکن است آثار آن در نسل‌های بعدی ظاهر شود (۸-۶).

استفاده‌ی صحیح و مناسب از وسایل حفاظت فردی و رعایت مقررات و آیین‌نامه‌های موجود در امر حفاظت ساختمان‌هایی که در آن‌ها دستگاه‌های مولد یا منبع پرتوهای یون‌ساز قرار دارند، می‌تواند تا حد زیادی این اثرات و آسیب‌ها را کاهش دهد (۹).

از این رو، آگاهی، آشنایی و کاربرد این دستورالعمل‌ها توسط کارکنان، می‌تواند نقش مهمی در حفاظت پرتوها ایفا کند. اگر این افراد آگاهی لازم را نداشته باشند، در نتیجه رفتار بهداشتی آن‌ها صحیح نخواهد بود و ممکن است به خود و یا به افرادی که جهت تشخیص یا درمان بیماری مجبور به استفاده از پرتوها هستند، آسیب برسانند. به همین دلیل، میزان آگاهی این افراد، امری لازم و ضروری می‌باشد (۱۰). در صورتی که میزان دز دریافتی به نسبت زیاد باشد، اثرات قطعی پدیدار می‌شود و اثرات احتمالی ممکن است در تمام سطوح پرتوگیری رخ دهد که از عوارض آن، سرطان‌ها و تأثیرات ژنتیک در نسل‌های آینده می‌باشد (۱۱-۱۵). پس از آن که خطرات پرتوهای یونیزان آشکار گردید، در اوایل قرن بیستم میلادی، استانداردها و محدودیت‌هایی در استفاده از این گونه پرتوها مقرر شد (۱۸-۱۶).

یکی از اولین سازمان‌هایی که استانداردهایی جهت استفاده از پرتو ارایه نمود، کمیسیون بین‌المللی حفاظت در رادیولوژی (ICRP) یا (International Commission on Radiological Protection) بود. در ایالات متحده‌ی امریکا، سازمان NCRP

یافته‌ها

در این مطالعه، مدت اندازه‌گیری ۳ ماه و محل‌های اندازه‌گیری نواحی تیروئید، قفسه‌ی سینه و کمر در ۱۰ نفر از کادر آموزشی و درمانی شامل ۲ نفر متخصص ارتوپدی و بیهوشی، ۳ نفر دستیار ارتوپدی و بیهوشی، ۱ کارشناس بیهوشی و ۴ نفر از پرسنل اتاق عمل در بیمارستان الزهرا (س) وابسته به دانشگاه علوم پزشکی اصفهان بود (جدول ۱). علت انتخاب این سه محل، حساسیت این نواحی و همچنین احتمال تابش زیاد به آن‌ها بود.

با توجه به این که هر دوره‌ی اندازه‌گیری سه ماه بود، با تقسیم اعداد پیش‌گفته بر تعداد فلورسکوپی‌هایی که هر شخص در طول سه ماه انجام داده بود و یا به عبارتی، تعداد مواردی که شخص در معرض اشعه بود، مقدار میانگین دز دریاقتی در هر مورد به دست آمد. این مقادیر، برای هر شخص به صورت جداگانه ثبت و سپس میانگین و انحراف معیار مقادیر موجود محاسبه و درج شد (جدول ۲).

بحث

در بیمارستان الزهرا (س) اصفهان، یک عمل جراحی ارتوپدی شکستگی گردن فمور و قرار دادن پروتز، به طور معمول ۳-۱ ساعت طول می‌کشد و در این مدت زمان، حدود ۵-۲ دقیقه تابش اشعه اعمال می‌گردد. این زمان‌ها بر حسب نوع عمل جراحی و سرعت عمل جراح ارتوپدی، در موارد مختلف متفاوت است. اغلب در چنین عمل جراحی، حدود ۱۰ نفر تیم درمانی در اتاق عمل حضور دارند. این مطالعه، به منظور اندازه‌گیری میزان اشعه‌ی جذبی این افراد و مقایسه‌ی آن با متخصصین ارتوپدی و تیم همراه و همچنین مقایسه‌ی تمام مقادیر با مقادیر استاندارد انجام شد.

میزان دز دریاقتی افراد شرکت‌کننده در مطالعه، بین صفر تا صد میلی‌راد متفاوت بود و در تمام موارد، میزان اشعه‌ی ایکس دریاقتی متخصص بیهوشی و پرسنل همراه، کمتر از تیم جراحی بود که آزادی عمل آن‌ها در دوری جستن از بیمار و به دنبال آن، دوری از منبع اشعه می‌تواند دلیل توجیه‌کننده‌ی آن باشد. ذکر این نکته ضروری است که در تمام موارد، میزان اشعه‌ی دریاقتی افراد مختلف شرکت‌کننده در مطالعه، کمتر از حد مجاز بر اساس دز مجاز کمیته‌ی بین‌المللی محافظت در برابر اشعه بود.

با یک نگاه اجمالی در نتایج آزمون t به راحتی می‌توان دریافت که اختلاف معنی‌داری بین مقادیر اشعه‌ی ایکس جذب شده توسط متخصصین بیهوشی به همراه دستیار و کارشناس هوشبری در اتاق‌های عمل در مقایسه با تیم جراحی وجود دارد ($P < 0/05$).

رابطه‌ی مستقیمی بین زمان در معرض بودن اشعه و همچنین فاصله با منبع اشعه وجود داشت. در تمام موارد، میزان اشعه‌ی دریاقتی تیم جراحی بیشتر از تیم بیهوشی بود و همواره این مقادیر، در حد قابل قبول و انتظار و کمتر از حد مجاز بود (۳۳-۳۱).

مقادیر جذبی کمتر در سطح قفسه‌ی سینه و کمر (ناحیه‌ی گنادها)، بیانگر تأثیر مثبت جلیقه‌ی سربی با ضخامت ۵ میلی‌متر می‌باشد (۳۵-۳۴). کارکنانی که لازم است در مجاورت بیمار در هنگام فلورسکوپی قرارگیرند، باید تا حد امکان، در مقابل پرتوهای پراکنده محافظت شوند.

فلورسکوپی فقط باید توسط افرادی انجام پذیرد که در زمینه‌ی این روش دوره‌ی تخصصی ویژه گذرانده‌اند. این امر، هم در مورد دستگاه‌های فلورسکوپی ثابت هم متحرک باید رعایت گردد (۳۵-۳۴).

فلورسکوپیست یا هر فرد دیگری که باید هنگام پرتودهی در اتاق

جدول ۱. میزان دز دریاقتی در نواحی تیروئید، قفسه‌ی سینه و ناحیه‌ی کمر در افراد مورد مطالعه طی دوره‌ی سه ماهه

میانگین دز دریاقتی در نقاط مختلف بدن (میلی‌راد)	متخصص ارتوپدی	متخصص بیهوشی	دستیاران ارتوپدی	دستیار بیهوشی	کارشناس بیهوشی	پرسنل اتاق عمل	مقدار P
تیروئید	۲۴/۸۷ ± ۲۲/۰۳	۱۶/۴۳ ± ۱۶/۷۷	۲۶/۳۰ ± ۵۵/۲۴	۱۱/۰۹ ± ۹/۲۲	۱۴/۶۶ ± ۱۲/۶۶	۲۳/۴۵ ± ۲۱/۱۱	۰/۰۳۳
قفسه‌ی سینه	۱۹/۵۶ ± ۱۸/۲۲	۱۳/۵۴ ± ۱۱/۶۳	۲۳/۵۴ ± ۲۱/۸۸	۱۰/۶۶ ± ۸/۵۵	۱۷/۸۸ ± ۱۴/۳۴	۱۷/۸۸ ± ۱۵/۲۲	۰/۱۳۴
کمر	۲۳/۶۹ ± ۲۰/۵۴	۱۱/۶۸ ± ۹/۷۶	۲۰/۰۵ ± ۱۹/۷۶	۸/۹۸ ± ۶/۴۹	۱۴/۹۰ ± ۱۱/۷۷	۱۸/۹۸ ± ۱۶/۳۷	۰/۱۲۵

جدول ۲. میزان دز دریاقتی در هر عمل جراحی ارتوپدی در نواحی تیروئید، قفسه‌ی سینه و ناحیه‌ی کمر در افراد مورد مطالعه

میانگین دز دریاقتی در نقاط مختلف بدن (میلی‌راد)	متخصص ارتوپدی	متخصص بیهوشی	دستیاران اورتوپدی	دستیار بیهوشی	کارشناس بیهوشی	پرسنل اتاق عمل	مقدار P
تیروئید	۴/۱۷ ± ۲/۱۳	۲/۷۳ ± ۱/۴۹	۳/۳۰ ± ۲/۲۲	۱/۰۲ ± ۲/۰۹	۲/۶۳ ± ۱/۶۶	۰/۳۰ ± ۲/۱۱	۰/۰۱۸
قفسه‌ی سینه	۱/۳۶ ± ۱/۲۵	۱/۱۴ ± ۱/۶۳	۰/۸۰ ± ۰/۰۳	۱/۴۳ ± ۸/۵۵	۲/۰۳ ± ۱/۳۴	۱/۱۰ ± ۱/۲۲	۰/۰۳۰
کمر	۲/۱۷ ± ۱/۰۹	۱/۳۸ ± ۱/۷۶	۲/۰۵ ± ۱/۶۶	۱/۹۸ ± ۰/۸۵	۱/۱۰ ± ۱/۷۷	۲/۴۳ ± ۱/۳۷	۰/۰۰۱

فلورسکوپی حضور داشته باشد، باید از روپوش سربی با ضخامت حداقل ۰/۲۵ و به طور ترجیحی ۰/۵ میلی‌متر استفاده نمایند (۳۴).

افرادی که لازم است در هنگام پرتودهی در اتاق فلورسکوپی حضور داشته باشند، نباید بیش از مقدار لازم به بیمار نزدیک شوند. برای افرادی که ممکن است از قسمت‌های پشت و یا پهلوهای بدنشان پرتوهای پراکنده دریافت نمایند، باید از روپوش‌های سربی دو طرفه استفاده نمود.

در صورت امکان، فلورسکپیستی که لازم است با دست جهت معاینه بیمار را لمس نماید، باید از دستکش سربی با ضخامت ۰/۵ میلی‌متر که ۲۵ درصد سرب داشته باشد، استفاده نماید.

در مواردی مانند آنژیوگرافی قلبی که مقدار پرتوهای پراکنده زیاد و لازم است افرادی در کنار بیمار قرار گیرند، در صورتی که نتوان از حفاظ ثابت دیگری استفاده کرد، می‌توان از عینک‌های سربی و حفاظ تیروئید استفاده نمود (۳۵).

هیچ شخصی نباید بیمار، کاست فیلم و یا سایر وسایل تصویربرداری یا لامپ اشعه‌ی X را در هنگام پرتودهی نگه دارد؛ مگر آن که هیچ روش مفید دیگری برای به دست آوردن تصویر تشخیصی وجود نداشته باشد (۳۵).

مقادیر دز پیش‌گفته، برای مجموع دزهای پرتوگیری خارجی در یک مدت مشخص و دزهای اجباری در همان مدت است. به طور معمول، مدت زمان محاسبه‌ی دز اجباری برای افراد بیش از ۱۸ سال، ۵۰ سال و برای افراد کمتر از ۱۸ سال، ۷۰ سال در نظر گرفته می‌شود.

برای مقایسه‌ی پرتوگیری با حد دز، مجموع معادل دز فردی ناشی از پرتوگیری خارجی از پرتوهای نافذ در مدت مشخص و دز معادل اجباری یا دز مؤثر اجباری ناشی از ورود مواد پرتوزا به بدن در همان مدت باید استفاده گردد (۳۳).

یکی از مهم‌ترین روش‌ها برای کاهش اثرات بالقوه‌ی تابش‌گیری اشعه‌ی X، استفاده از حفاظ‌های مناسب جهت حفاظت از اندام‌های حیاتی می‌باشد. در گذشته، از پوشش‌های سربی سنگین جهت حفاظت استفاده می‌شد، اما با پیشرفت علم و ظهور تکنولوژی جدید، پوشش‌های Lead free بسیار سبک جای خود را به پوشش‌های قدیمی داد. در پوشش‌های Lead free، ترکیباتی استفاده شده است که علاوه بر سبک بودن، کار حفاظت در برابر اشعه را به صورت

کامل انجام می‌دهد (۳۴).

پرتوهای پراکنده (Scatter radiation) بخش عمده‌ی پرتوهای رسیده به متخصصین و پرتوکاران را تشکیل می‌دهد که انرژی آن‌ها در محدوده‌ی ۶۰-۳۰ میلی‌راد می‌باشد. پرتوهای با این انرژی، با پدیده‌ای موسوم به فوتوالکتریک در مواد محافظ جذب می‌شوند. این پرتوهای کم انرژی، به شدت در بافت‌های سطحی جذب می‌شود و ایجاد آسیب می‌کند. در پدیده‌ی فوتوالکتریک، بالا بودن عدد اتمی ماده‌ی جاذب، باعث جذب بیشتر اشعه خواهد شد. ترکیبات Lead free با توجه به مشخصات ویژه‌ای که دارند، پرتوهای پراکنده را تا ۹۹ درصد جذب می‌کنند (۳۵).

طبق قوانین آژانس بین‌المللی انرژی اتمی، «هیچ آستانه‌ای برای خطرات تشعشعات یونیزاسیون وجود ندارد». مفهوم این جمله آن است که پرتوهای یونیزان به هر میزان که باشد، برای سلامتی انسان خطرناک است و باید تا حد ممکن از آن اجتناب کرد. پرتوهای یون‌سازی چون X و γ ، قادر به یونیزه کردن مواد و بافت‌های زنده می‌باشند (۳۱).

بافت‌های حساس به پرتو مانند مغز استخوان، سلول‌های جنسی، بافت لنفاوی، مخاط دستگاه گوارشی و گلو، اپی‌درم پوست و فولیکول‌های مو و چشم می‌باشند (۳۲).

اثرات پرتوهای یون‌ساز شامل آسیب مراکز خون‌ساز، آسیب دستگاه گوارش، آسیب دستگاه اعصاب مرکزی و عوارضی مثل آب مروارید، سرطان‌های مختلف، کوتاه شدن عمر، ریزش مو و غیره می‌باشد. از این رو، رعایت موارد ایمنی از جمله کاهش یافتن زمان پرتوگیری، ایجاد فاصله بین منبع تولید اشعه و پرسنل، استفاده از تجهیزات و پوشش‌های حفاظتی و کمتر بودن دز دریافتی کارکنان پرتوکار و مردم از حدود دز استاندارد پایه‌ی حفاظت در برابر اشعه جهت حفاظت پرسنل اتاق عمل ضرورت دارد (۳۴-۳۵).

تشکر و قدردانی

پژوهشگران بر خود لازم می‌دانند از کمک‌های بی‌دریغ پرسنل محترم بیهوشی و همچنین، پرسنل زحمت‌کش اتاق عمل بیمارستان الزهرای (س) اصفهان که در انجام این پژوهش صمیمانه همکاری نمودند، سپاسگزاری نمایند. لازم به ذکر است که این مطالعه با کد ۳۹۰۴۳۲ در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان به تصویب رسیده است.

References

- Theocharopoulos N, Perisinakis K, Damilakis J, Papadokostakis G, Hadjipavlou A, Gourtsoyannis N. Occupational exposure from common fluoroscopic projections used in orthopaedic surgery. J Bone Joint Surg Am 2003; 85-A(9): 1698-703.
- Jain JK, Sen RK, Bansal SC, Nagi ON. Image intensifier and orthopedic surgeon-current concept review. Indian J Orthop 2001; 35(2): 13-9.
- Singer G. Occupational radiation exposure to the surgeon. J Am Acad Orthop Surg 2005; 13(1): 69-76.
- Brenner DJ, Hall EJ. Computed tomography--an increasing source of radiation exposure. N Engl J

- Med 2007; 357(22): 2277-84.
5. Pearce MS, Salotti JA, Little MP, McHugh K, Lee C, Kim KP, et al. Radiation exposure from CT scans in childhood and subsequent risk of leukaemia and brain tumours: a retrospective cohort study. *Lancet* 2012; 380(9840): 499-505.
 6. Mathews JD, Forsythe AV, Brady Z, Butler MW, Goergen SK, Byrnes GB, et al. Cancer risk in 680,000 people exposed to computed tomography scans in childhood or adolescence: data linkage study of 11 million Australians. *BMJ* 2013; 346: f2360.
 7. Badman BL, Rill L, Butkovich B, Arreola M, Friend RA. Radiation exposure with use of the mini-C-arm for routine orthopaedic imaging procedures. *J Bone Joint Surg Am* 2005; 87(1): 13-7.
 8. Theocharopoulos N, Damilakis J, Perisinakis K, Papadokostakis G, Hadjipavlou A, Gourtsoyannis N. Image-guided reconstruction of femoral fractures: is the staff progeny safe? *Clin Orthop Relat Res* 2005; (430): 182-8.
 9. The 2007 Recommendations of the International Commission on Radiological Protection. ICRP publication 103. *Ann ICRP* 2007; 37(2-4): 1-332.
 10. Herscovici D, Sanders RW. The effects, risks, and guidelines for radiation use in orthopaedic surgery. *Clin Orthop Relat Res* 2000; (375): 126-32.
 11. Broder J, Fordham LA, Warshauer DM. Increasing utilization of computed tomography in the pediatric emergency department, 2000-2006. *Emerg Radiol* 2007; 14(4): 227-32.
 12. Miglioretti DL, Johnson E, Williams A, Greenlee RT, Weinmann S, Solberg LI, et al. The use of computed tomography in pediatrics and the associated radiation exposure and estimated cancer risk. *JAMA Pediatr* 2013; 167(8): 700-7.
 13. Botchu R, Ravikumar K. Radiation exposure from fluoroscopy during fixation of hip fracture and fracture of ankle: Effect of surgical experience. *Indian J Orthop* 2008; 42(4): 471-3.
 14. Brateman L. Radiation safety considerations for diagnostic radiology personnel. *Radiographics* 1999; 19(4): 1037-55.
 15. Mastrangelo G, Fedeli U, Fadda E, Giovanazzi A, Scoizzato L, Saia B. Increased cancer risk among surgeons in an orthopaedic hospital. *Occup Med (Lond)* 2005; 55(6): 498-500.
 16. Shahi V, Brinjikji W, Cloft HJ, Thomas KB, Kallmes DF. Trends in CT Utilization for Pediatric Fall Patients in US Emergency Departments. *Acad Radiol* 2015; 22(7): 898-903.
 17. Alonso JA, Shaw DL, Maxwell A, McGill GP, Hart GC. Scattered radiation during fixation of hip fractures. Is distance alone enough protection? *J Bone Joint Surg Br* 2001; 83(6): 815-8.
 18. Oddy MJ, Aldam CH. Ionising radiation exposure to orthopaedic trainees: the effect of sub-specialty training. *Ann R Coll Surg Engl* 2006; 88(3): 297-301.
 19. Lester JD, Hsu S, Ahmad CS. Occupational hazards facing orthopedic surgeons. *Am J Orthop (Belle Mead NJ)* 2012; 41(3): 132-9.
 20. Palacio EP, Ribeiro AA, Gavassi BM, Di Stasi GG, Galbiatti JA, Junior AD, et al. Exposure of the surgical team to ionizing radiation during orthopedic surgical procedures. *Rev Bras Ortop* 2014; 49(3): 227-32.
 21. Townsend BA, Callahan MJ, Zurakowski D, Taylor GA. Has pediatric CT at children's hospitals reached its peak? *AJR Am J Roentgenol* 2010; 194(5): 1194-6.
 22. Menoch MJ, Hirsh DA, Khan NS, Simon HK, Sturm JJ. Trends in computed tomography utilization in the pediatric emergency department. *Pediatrics* 2012; 129(3): e690-e697.
 23. Neff LP, Ladd MR, Becher RD, Jordanhazy RA, Gallaher JR, Prankoff T. Computerized tomography utilization in children with appendicitis-differences in referring and children's hospitals. *Am Surg* 2011; 77(8): 1061-5.
 24. Strauss KJ, Kaste SC. The ALARA (as low as reasonably achievable) concept in pediatric interventional and fluoroscopic imaging: striving to keep radiation doses as low as possible during fluoroscopy of pediatric patients--a white paper executive summary. *Pediatr Radiol* 2006; 36(Suppl 2): 110-2.
 25. Athey J, Dean JM, Ball J, Wiebe R, Melese-d'Hospital I. Ability of hospitals to care for pediatric emergency patients. *Pediatr Emerg Care* 2001; 17(3): 170-4.
 26. Goske MJ, Applegate KE, Boylan J, Butler PF, Callahan MJ, Coley BD, et al. The Image Gently campaign: working together to change practice. *AJR Am J Roentgenol* 2008; 190(2): 273-4.
 27. Boone JM, Geraghty EM, Seibert JA, Wootton-Gorges SL. Dose reduction in pediatric CT: a rational approach. *Radiology* 2003; 228(2): 352-60.
 28. Morgan HT. Dose reduction for CT pediatric imaging. *Pediatr Radiol* 2002; 32(10): 724-8.
 29. Amis ES, Jr. CT radiation dose: trending in the right direction. *Radiology* 2011; 261(1): 5-8.
 30. Gunn ML, Kohr JR. State of the art: technologies for computed tomography dose reduction. *Emerg Radiol* 2010; 17(3): 209-18.
 31. Borjesson J, Latifi A, Friman O, Beckman MO, Oldner A, Labruto F. Accuracy of low-dose chest CT in intensive care patients. *Emerg Radiol* 2011; 18(1): 17-21.
 32. Shenoy-Bhangle A, Nimkin K, Gee MS. Pediatric imaging: current and emerging techniques. *J Postgrad Med* 2010; 56(2): 98-102.
 33. Hricak H, Brenner DJ, Adelstein SJ, Frush DP, Hall EJ, Howell RW, et al. Managing radiation use in medical imaging: a multifaceted challenge. *Radiology* 2011; 258(3): 889-905.
 34. Burr A, Renaud EJ, Manno M, Makris J, Cooley E, DeRoss A, et al. Glowing in the dark: time of day as a determinant of radiographic imaging in the evaluation of abdominal pain in children. *J Pediatr Surg* 2011; 46(1): 188-91.
 35. Katz SI, Saluja S, Brink JA, Forman HP. Radiation dose associated with unenhanced CT for suspected renal colic: impact of repetitive studies. *AJR Am J Roentgenol* 2006; 186(4): 1120-4.

Occupational Radiation Exposure in Anesthesia Personal from C-Arm Fluoroscopy during Orthopedic Surgical Procedures

Daruosh Moradi-Farsani MD¹, Khosrou Naghibi MD², Kamran Montazeri MD³, Miiitra Lotfollahi⁴

Original Article

Abstract

Background: The present study aimed to evaluate and analyze the amount of radiation received by anesthesiologists and anesthesia personal in Alzahra Hospital, Isfahan, Iran, using standard precautionary measures, to assess determinants for personal receiving high doses during orthopedic surgeries.

Methods: Ten people were included in a three month prospective study for radiation exposure measurement with adequate protection measures in all procedures requiring C-Arm fluoroscopy. Each person was provided with three Thermo Luminescent Dosimeter (TLD) badges which were tagged at the levels of neck, chest and gonads. Operating and exposure times of each procedure were recorded. Exposure dose of each badge at the end of the study was obtained and the results were analyzed. To measure dose, TLD cards containing CaSO₄ detectors were used. To read the data from TLDs, a TLD reader (Solaro2A) was used.

Findings: Mean radiation exposure to all the parts were well within permissible limits. There was a significantly positive correlation between the exposure time and the exposure dose for the orthopedic surgeon ($r = 0.647$; $P < 0.01$) and orthopedic residents ($r = 0.49$; $P < 0.05$). The orthopedic surgeon and residents had the maximum exposure overall. For the group of anesthetist, anesthesia resident and anesthesia nurse, the mean radiation exposure was less than the others. It was founded that the mean of absorbed dose for each fluroscopy on thyroid was 5.21 ± 2.56 mrad for the orthopedic surgeon, 1.13 ± 1.11 mrad for anesthesiologist, 1.22 ± 1.19 mrad for anesthesia resident and 1.39 ± 1.33 mrad for anesthesia personnel.

Conclusion: The mean exposure doses to all parts of the body of anesthetist and co-workers were well within the permissible limits. It is thus desirable that radiation safety precautions should be taken and exposures should be regularly monitored with at least one dosimeter for monitoring the whole-body dose.

Keywords: Image intensifiers, Radiation hazards, Radiation exposure, Orthopedic surgeon

Citation: Moradi-Farsani D, Naghibi Kh, Montazeri K, Lotfollahi M. Occupational Radiation Exposure in Anesthesia Personal from C-Arm Fluoroscopy during Orthopedic Surgical Procedures. J Isfahan Med Sch 2016; 33(360): 2013-8

1- Assistant Professor, Department of Anesthesiology and Critical Care, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

2- Associate Professor, Department of Anesthesiology and Critical Care, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

3- Professor, Department of Anesthesiology and Critical Care, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

4- Student of Medicine, School of Medicine AND Student Research Committee, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

Corresponding Author: Khosrou Naghibi, Email: naghibi@med.mui.ac.ir

بررسی شیوع ژن CTX-M در سویه‌های Escherichia coli جدا شده از عفونت ادراری در دو گروه از بیماران سرپایی و بستری شهر اصفهان

مهدی مباشری زاده^۱، دکتر سید کاظم بیدکی^۲، دکتر سینا مباشری زاده^۳

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: افزایش شیوع بتا لاکتامازهای گروه CTX-M در جهان در برخی از پاتوژن‌های گرم منفی باعث نگرانی جامعه‌ی پزشکی شده است. هدف از این مطالعه، بررسی فراوانی نسبی باکتری‌های Escherichia coli تولید کننده بتا لاکتاماز وسیع الطیف (ESBL یا Extended-spectrum beta-lactamase)، فراوانی ژن CTX-M و الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در بیماران مبتلا به عفونت‌های ادراری ناشی از باکتری Escherichia coli در دو گروه بیمارستانی و سرپایی در شهر اصفهان در سال ۱۳۹۲ بود.

روش‌ها: این مطالعه بر روی ۱۲۰ نمونه‌ی باکتری Escherichia coli جدا شده از بیماران سرپایی و بستری مبتلا به عفونت ادراری انجام شد. جهت تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی، از روش Disc diffusion استفاده شد. سویه‌های تولید کننده‌ی ESBL با استفاده از روش Combined disc تأیید شد و با روش PCR (Polymerase chain reaction) از نظر ژن CTX-M مورد بررسی قرار گرفتند. از نرم‌افزار WHONET 5.6 و آزمون Excel جهت واکاوی داده‌ها استفاده شد.

یافته‌ها: از مجموع ۱۲۰ سویه‌ی Escherichia coli، به ترتیب در گروه‌های سرپایی و بستری، ۱۲ مورد (۱۰/۲ درصد) و ۳۳ مورد (۵۵/۰ درصد) ESBL مثبت بودند. مقاومت به آمپی‌سیلین و کوتریماکسازول در گروه سرپایی به ترتیب ۸۴/۴ و ۶۰/۱ درصد و در گروه بستری ۹۴/۹ و ۸۴/۸ درصد گزارش شد. با استفاده از روش PCR، مشخص شد که ۳۰ سویه، واجد ژن CTX-M بودند.

نتیجه‌گیری: تولید ESBL در ایزوله‌های بیمارستانی، تهدید بزرگی برای مصرف آنتی‌بیوتیک‌های وسیع الطیف است. با توجه به حضور ژن CTX-M در درصد بالایی از این سویه‌ها، مطالعات بیشتر ملکولی و اپیدمیولوژیک در محیط‌های درمانی ضروری می‌باشد.

واژگان کلیدی: عفونت ادراری، Escherichia coli، CTX-M، بتا لاکتاماز وسیع الطیف

ارجاع: مباشری زاده مهدی، بیدکی سید کاظم، مباشری زاده سینا. بررسی شیوع ژن CTX-M در سویه‌های Escherichia coli جدا شده از عفونت ادراری در دو گروه از بیماران سرپایی و بستری شهر اصفهان. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۴؛ ۳۳ (۳۶۰): ۲۰۲۵-۲۰۱۹

مقدمه

مقاومت باکتری‌ها در برابر آنتی‌بیوتیک‌های خانواده‌ی بتا لاکتام، تولید بتا لاکتامازها می‌باشد (۱-۵).

بتا لاکتامازهای وسیع الطیف (ESBL یا Extended-spectrum beta-lactamase) آنزیم‌هایی هستند که سفالوسپورین‌های وسیع الطیف مانند سفوتاکسیم، سفتریاکسون و سفنازیدیم را هیدرولیز می‌کنند. ژن‌های ESBL اغلب توسط پلاسمیدها حمل می‌شوند. پلاسمیدهای مزبور به طور عمده حامل ژن‌های مقاومت نسبت به سایر گروه‌های دارویی از جمله آمینوگلیکوزیدها نیز می‌باشند و به همین دلیل، انتخاب داروی مؤثر

عفونت مجاری ادراری، یکی از شایع‌ترین عفونت‌های باکتریال جوامع مختلف و از مشکلات بهداشتی بسیاری از کشورها محسوب می‌شود. از جمله باکتری‌های شایع عفونت‌های ادراری، Escherichia coli و Klebsiella pneumoniae است. عفونت‌های ادراری، شایع‌ترین نوع عفونت‌های بیمارستانی می‌باشند. مقاوم شدن باکتری‌ها در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها، از جمله مشکلات گریبان‌گیر تمامی کشورها محسوب می‌گردد و نه تنها منجر به شکست درمان، بلکه باعث ایجاد سویه‌های جدید و مقاوم‌تر نیز می‌شود. مهم‌ترین راه

۱- کارشناس ارشد، گروه ژنتیک و بیوتکنولوژی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه پیام نور، مرکز تهران شرق، تهران، ایران

۲- استادیار، گروه ژنتیک و بیوتکنولوژی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه پیام نور، مرکز تهران شرق، تهران، ایران

۳- مرکز تحقیقات عفونت‌های بیمارستانی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: دکتر سید کاظم بیدکی

(Clinical and Laboratory Standards Institute)، حضور ESBL در باکتری بر اساس میزان هاله‌ی عدم رشد باکتری در اطراف دیسک‌های آنتی‌بیوتیک شناسایی می‌شود. در این آزمایش، از محیط Müller-Hinton agar (ساخت شرکت Merck) و برای تلقیح نمونه روی محیط، از روش انتقال سوسترایی به غلظت ۰/۵ مک فارلند یا از روش انتقال مستقیم کلنی باکتری استفاده شد؛ به این ترتیب که اگر هاله‌ی عدم رشد باکتری در اطراف دیسک‌های سفنازیدیم ۳۰ میکروگرم (ساخت شرکت Mast)، کمتر یا مساوی ۲۲ میلی‌متر و در اطراف دیسک سفتری آکسون ۳۰ میکروگرم (ساخت شرکت Mast)، کمتر یا مساوی ۲۵ میلی‌متر و در اطراف دیسک سفوتاکسیم ۳۰ میکروگرم (ساخت شرکت Mast)، کمتر یا مساوی ۲۷ میلی‌متر باشد، باکتری به عنوان سویه‌ی بالقوه‌ی مولد ESBL گزارش داده می‌شود.

برای تأیید نهایی تولید ESBL در ارگانسیم‌های اسکرین مثبت از آزمون دیسک‌های ترکیبی استفاده شد. در این روش، در محیط Müller-Hinton agar، از دیسک‌های ۳۰ میکروگرمی سفوتاکسیم و سفنازیدیم در مجاورت دیسک مرکب آن‌ها با ۱۰ میکروگرم کلولانینک اسید بر اساس روش دیسک دیفیوژن مانند آزمون غربال‌گری استفاده شد. بدین ترتیب، در صورتی که قطر هاله‌ی عدم رشد باکتری اطراف دیسک ترکیبی سفنازیدیم-کلولانینک اسید بزرگ‌تر یا مساوی ۵ میلی‌متر در مقایسه با قطر هاله‌ی عدم رشد در اطراف دیسک سفنازیدیم باشد و همچنین اگر قطر هاله‌ی عدم رشد در اطراف دیسک ترکیبی سفوتاکسیم-کلولانینک اسید بزرگ‌تر یا مساوی ۳ میلی‌متر در مقایسه با قطر هاله‌ی عدم رشد در اطراف دیسک سفوتاکسیم باشد، سویه‌ی مورد نظر به عنوان سویه‌ی مولد ESBL در نظر گرفته می‌شود. برای آزمون کنترل کیفی، هم‌زمان از دو سویه‌ی *Klebsiella pneumoniae* سویه‌ی ATCC700603 و *Escherichia coli* سویه‌ی ATCC25922 استفاده شد (۱۱).

روش انجام تکنیک PCR (Polymerase chain reaction): برای جداسازی DNA از کیت فرمتاز استفاده شد. در این روش، ابتدا چند کلنی از باکتری در محیط TSB کشت داده شد و پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد طبق دستورالعمل کیت، استخراج DNA صورت گرفت. تکنیک PCR با استفاده از آنزیم Taq Polymerase، پرایمرهای اختصاصی طراحی شده و نمونه‌ی DNA استخراج شده از باکتری‌ها با دستگاه ترموسایکلر انجام شد. پرایمرها ساخت شرکت متابیون آلمان بود. توالی پرایمر Forward: 5'-ACGCTGTTGTTAGGAAGTG-3' و توالی Reverse: 5'-TTGAGGCTGGGTGAAGT-3'. بود. این پرایمرها باعث تکثیر قطعاتی به طول ۷۵۹ جفت باز می‌شود.

برای مهار چنین ارگانسیم‌هایی از اهمیت و محدودیت‌های فراوانی برخوردار است. تا کنون، متجاوز از ۲۰۰ نوع بتا لاکتاماز وسیع‌الطیف شناسایی شده است که اغلب مشتقاتی از ژن CTX-M، TEM، SHV و OXA می‌باشند (۶-۷).

آنزیم‌های CTX-M بر اساس تشابه موجود در توالی اسیدآمینوی آن‌ها به زیر گروه‌هایی دسته‌بندی می‌شوند. مطالعات فیلوژنیک، ۵ گروه اصلی از این آنزیم‌ها را معین نموده است. اعضای هر گروه بیش از ۹۴ درصد با یکدیگر مشابهت دارند که شامل گروه‌های CTX-M1، CTX-M2، CTX-M8، CTX-M9، CTX-M25 و CTX-M25 می‌باشند (۸-۱۰).

با توجه به افزایش شیوع سویه‌های پیش‌گفته در نمونه‌های ادراری در ایران و ضرورت بررسی جامع توزیع فراوانی این آنزیم‌ها در باکتری‌های مورد نظر، همچنین اصلاح الگوی معمول آنتی‌بیوگرام در آزمایشگاه‌ها و شناسایی باکتری‌های مولد ESBL و ژنوتایپینگ انواع مولد ESBL، در مطالعه‌ی حاضر، فراوانی نسبی ژن‌های CTX-M در باکتری‌های تولیدکننده‌ی ESBL جدا شده از عفونت‌های ادراری بیمارستانی و غیر بیمارستانی در مراکز درمانی منتخب شهر اصفهان مورد بررسی قرار گرفت.

روش‌ها

این مطالعه یک بررسی مقطعی بود که در سال ۱۳۹۲ بر روی دو گروه بیماران سرپایی و بستری مبتلا به عفونت ادراری ناشی از باکتری *Escherichia coli* انجام گرفت. ملاک انتخاب نمونه‌های مثبت در گروه سرپایی، نحوه‌ی صحیح جداسازی باکتری، خالص بودن باکتری جدا شده و داشتن حداقل ۵ گلبول سفید در گزارش کامل ادرار بیمار بود. در گروه بیمارستانی، ملاک انتخاب، بستری شدن بیمار در یکی از بخش‌های بیمارستان و داشتن علائم مربوط به عفونت‌های ادراری و یا استفاده از سوند ادراری بود.

جهت کشت نمونه‌های ادراری، از محیط‌های Blood agar و Eosin methylene blue agar استفاده شد. بعد از ۲۴-۴۸ ساعت انکوباسیون، سویه‌های *Escherichia coli* بر اساس روش استاندارد، واکنش گرم، خصوصیات کشت و مورفولوژیک، آزمایش‌های بیوشیمیایی [اکسیداز، سیمون سیترات، اوره‌آز، فنیل آلانین دامیناز، لیزین دکربوکسیلاز، Methyl Red-Voges Proskauer (MRVP)، Indole، Sulfide و Motility (SIM) و نیز Triple sugar iron (TSI)] مورد شناسایی قرار گرفتند.

جهت بررسی الگوی مقاومتی ایزوله‌های *Escherichia coli* در برابر گونه‌های مختلف آنتی‌بیوتیک از روش Kirby-Bauer استفاده شد. بر اساس روش پیشنهادی CLSI

مقاومت نشان دادند. مقاومت این گروه نسبت به سفنازیدیم، سفوتاکسیم و سفیم به ترتیب ۵۹/۴، ۶۴/۲ و ۶۲/۵ درصد بود. در این گروه، ایمی‌پنم با ۹۷/۵ درصد بیشترین تأثیر را داشت (جدول ۱). طبق شکل ۲، ۱۰۰ درصد سویه‌های مولد ESBL و ۸ درصد سویه‌های ESBL منفی، به سفوتاکسیم مقاوم بودند ($P < ۰/۰۰۱$). همچنین، میزان مقاومت به سفنازیدیم در سویه‌های ESBL مثبت و منفی به ترتیب ۹۷/۸ و ۵/۳ درصد بود ($P < ۰/۰۰۱$). مقاومت به سفوتاکسیم در سویه‌های حاوی ژن CTX-M ۱۰۰ و در سویه‌های فاقد این ژن، ۲۳/۳ درصد بود ($P < ۰/۰۰۱$). مقاومت به سفنازیدیم نیز در دو گروه مربوط به ترتیب ۱۰۰ و ۲۰ درصد بود ($P < ۰/۰۰۱$).

بحث

مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها مسأله‌ی بسیار مهمی در عفونت‌های مرتبط با بیمارستان‌ها و مراکز بهداشتی-درمانی است که متأسفانه این مسأله به درون جامعه نیز رخنه کرده است. در این میان، باکتری‌های گرم منفی تولید کننده‌ی ESBL، نگرانی عمده‌ای را در خصوص کنترل و درمان این عفونت‌ها به وجود آورده‌اند (۱۶-۱۲).
آنزیم‌های مختلفی از باکتری‌های گرم منفی جدا می‌شوند که مسؤول این مقاومت می‌باشند؛ شایع‌ترین آن‌ها SHV، TEM و CTX-M می‌باشند. در اروپا، ظهور این آنزیم‌ها اولین بار در سال ۱۹۸۳ گزارش گردید و از آن زمان، تعداد آن‌ها به طور چشم‌گیری افزایش یافته است (۱۸-۱۷).

واسرشتگی اولیه در دمای ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه و سپس ۳۵ چرخه به ترتیب با دمای واسرشتگی ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه و دمای اتصال آغازگر ۵۸ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه و دمای تکثیر ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه انجام شد. در انتها، تکثیر نهایی در دمای ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه انجام گرفت. در روش PCR، جهت کنترل کیفی از *Escherichia coli* سویه‌ی DH10B به عنوان شاهد منفی و از سویه‌ی J53-PMG267 به عنوان شاهد مثبت استفاده شد. محصول PCR بعد از الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۲ درصد مورد ارزیابی قرار گرفت (شکل ۱).

اطلاعات به دست آمده در نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۲ (version 22, SPSS Inc., Chicago, IL) با آزمون χ^2 تجزیه و تحلیل شد.

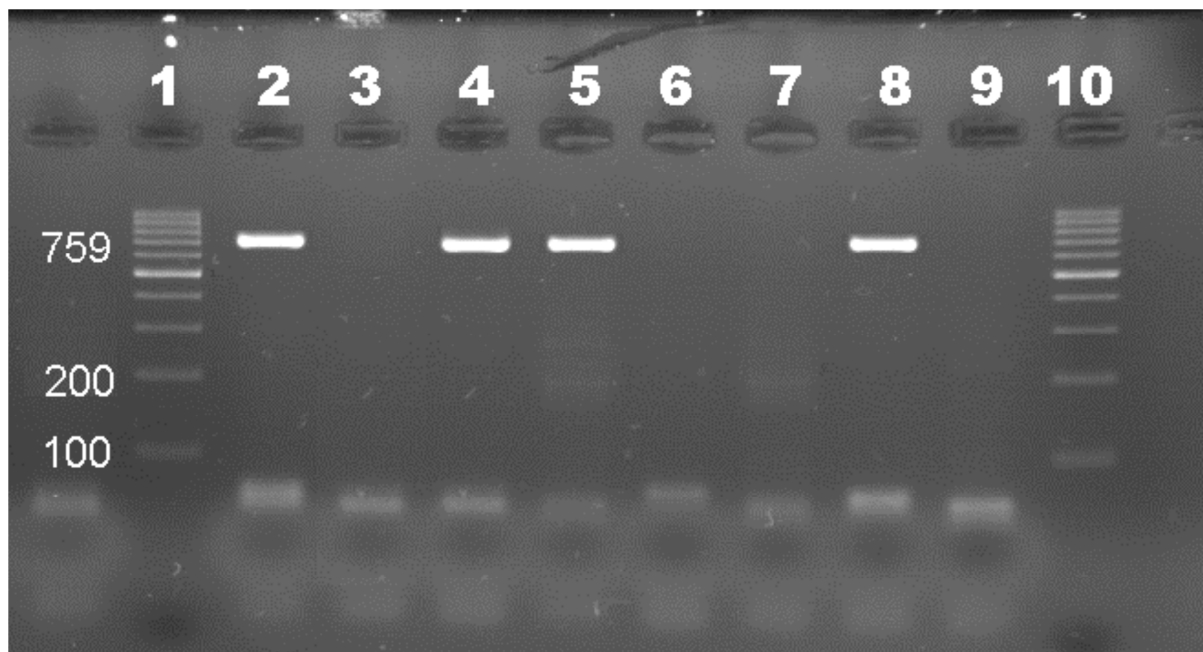
یافته‌ها

از مجموع ۶۰ ایزوله‌ی *Escherichia coli* جدا شده از بیماران سرپایی، آمپی‌سیلین ۸۴/۴، کوتریکوماکسازول ۶۰/۱، نالیدیکسیک اسید ۴۰/۸ و سفازولین ۴۲/۰ درصد، مقاومت نشان دادند. در این گروه، نیترو فورانتوین با ۸۵/۹ درصد بیشترین حساسیت و سفتی‌زوکسیم، سفنازیدیم و سفوتاکسیم به ترتیب با ۷۹/۶، ۸۵/۴ و ۷۵/۶ درصد، تأثیر قابل قبولی داشتند.
از ۶۰ ایزوله‌ی *Escherichia coli* جدا شده از بیماران بستری، آمپی‌سیلین ۹۴/۹، کوتریکوماکسازول ۸۴/۸ و سفازولین ۷۲/۲ درصد

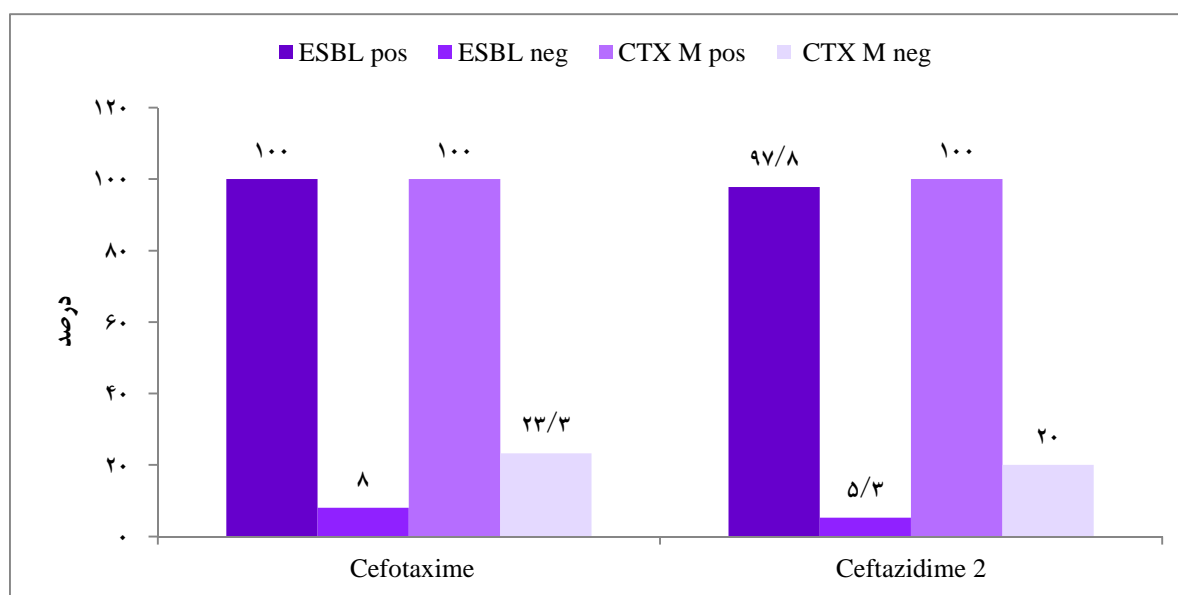
جدول ۱. حساسیت سویه‌های *Escherichia coli* جدا شده از عفونت‌های ادراری افراد سرپایی و بستری بر اساس روش Kirby-Bauer

مقدار P	بیماران سرپایی			بیماران بستری			آنتی‌بیوتیک
	S	I	R	S	I	R	
< ۰/۰۰۱	۱۴/۵	۱/۱	۸۴/۴	۵/۱	۰	۹۴/۹	Ampicillin
< ۰/۰۰۱	۵۴/۰	۴/۰	۴۲/۰	۱۶/۷	۱۱/۱	۷۲/۲	Cefazolin
< ۰/۰۰۱	۷۹/۶	۰/۷	۱۹/۷	۴۰/۶	۰	۵۹/۴	Ceftazidime
< ۰/۰۰۱	۷۵/۶	۴/۶	۱۹/۸	۳۴/۳	۱/۵	۶۴/۲	Cefotaxime
-	۸۵/۴	۲/۴	۱۲/۲	NA	NA	NA	Ceftizoxime
۰/۱۱۰	۸۱/۶	۱۰/۲	۸/۲	۷۹/۲	۳/۸	۱۷/۰	Amikacin
-	۷۸/۳	۳/۱	۱۸/۶	NA	NA	NA	Gentamicin
-	۵۳/۹	۵/۳	۴۰/۸	NA	NA	NA	Nalidixic acid
< ۰/۰۰۱	۶۷/۳	۱/۳	۳۱/۴	۵۱/۲	۱/۲	۴۷/۶	Ciprofloxacin
< ۰/۰۰۱	۳۹/۲	۰/۶	۶۰/۱	۱۵/۲	۰	۸۴/۸	Co-trimoxazol
< ۰/۰۰۱	۸۵/۹	۴/۰	۱۰/۱	۷۵/۶	۱/۳	۲۳/۱	Nitrofurantoin
-	NA	NA	NA	۹۷/۵	۰	۲/۵	Imipenem
-	NA	NA	NA	۳۷/۵	۰	۶۲/۵	Cefepime

S: Susceptible; I: intermediate; R: Resistant; NA: Not applicable



شکل ۱. ژل آگارز حاوی نمونه‌های PCR (Polymerase chain reaction) حاصل از تکثیر ژن CTX-M. ستون ۱، مربوط به اندازه‌ی نشانگر و ستون‌های ۲، ۴ و ۵ ایزوله‌های مثبت و نمونه‌های ۳، ۶ و ۷ ایزوله‌های منفی می‌باشند. ستون ۸، شاهد مثبت و ستون ۹ مربوط به شاهد منفی می‌باشد.



شکل ۲. درصد فراوانی مقاومت به سفوتاکسیم و سفنازیدیم بر حسب ESBL (Extended-spectrum beta-lactamase) و ژن CTX-M

در مطالعه‌ای که در کشور هند انجام شد، فراوانی نسبی سویه‌های *Escherichia coli* جدا شده از عفونت‌های ادراری بیمارستانی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های کوتریموکسازول ۸۴/۸ و نسبت به سیپروفلوکساسین ۴۷/۶ درصد بود (شکل ۱) که تا حدودی در دو کشور مشابه می‌باشد.

در مطالعه‌ای که در یکی از بیمارستان‌های شیکاگو صورت گرفت، از میان ۱۱۴۰۷ نمونه‌ی ادراری از بیماران سرپایی، ۱۹۳ مورد

در مطالعه‌ای که در کشور هند انجام شد، فراوانی نسبی سویه‌های *Escherichia coli* جدا شده از عفونت‌های ادراری بیمارستانی، ۲۶ درصد مشاهده گردید. در این مطالعه، مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های کوتریموکسازول ۷۵، سیپروفلوکساسین ۵۲ و جتتامایسین ۴۵ درصد گزارش شده است (۱۹).

در مطالعه‌ی حاضر در ایران، مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های

بستری، به نظر می‌رسد که نتایج ژنوتیپی با نتایج فنوتیپی همخوانی داشته باشند. بنا بر این، مصرف بی‌رویهی آنتی‌بیوتیک وسیع‌الطیف در بخش‌های عفونی و انتقال آلودگی در بین بیماران و کادر بیمارستانی را می‌توان از دلایل انتشار سویه‌های مولد ESBL در محیط‌های درمانی دانست. همچنین، این گونه مکان‌ها را می‌توان محلی برای انتشار چنین سویه‌هایی به داخل جامعه قلمداد نمود.

با توجه به این مطالعه و سایر مطالعات انجام گرفته در ایران و کشورهای دیگر، تشابهات و اختلافاتی در فراوانی نسبی باکتری‌های *Escherichia coli* مولد ESBL مشاهده گردیده است که این مسأله بیشتر به شرایط منطقه‌ای و جغرافیایی مکان مورد مطالعه و همچنین سلیق انتخاب دارو و مصرف بی‌رویهی داروهای وسیع‌الطیف بر می‌گردد. هدف از این مطالعات، اطمینان از تجویز مناسب و مؤثر آنتی‌بیوتیک‌ها جهت پیش‌گیری از ایجاد میکروارگانسیم‌های مقاوم و کاهش انتشار آن‌ها می‌باشد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از تمامی کسانی که در این پژوهش همکاری نمودند سپاسگزاری می‌گردد.

Escherichia coli جدا شده مولد ESBL بود که در بین آن‌ها، ۱۰۷ مورد (۵۵ درصد) از نظر حضور ژن CTX-M مثبت گزارش شدند (۲۰). در مطالعه‌ی حاضر، ۱۲ مورد از ۶۰ نمونه‌ی بیماران سرپایی، مولد ESBL گزارش شدند که ۴ مورد (۳۳ درصد) از نظر ژن CTX-M مثبت بودند.

در مطالعه‌ی Shahid و همکاران در هند بر روی ۹۳ نمونه‌ی *Escherichia coli*، با استفاده از روش PCR مشخص شد که ۷۲ نمونه، مولد ژن CTX-M بودند (۲۱).

در مطالعه‌ی در شهر سنج، از ۱۸۸ نمونه‌ی ادراری، ۱۵۰ مورد *Escherichia coli* بودند که ۹/۶ درصد از آن‌ها حاوی ژن CTX-M بودند (۲۲).

در مطالعه‌ی که در شهرکرد انجام شد، از ۹۱ ایزوله‌ی مولد ESBL مربوط به خانواده‌ی انتروباکتریاسه، ۶۲ ایزوله مربوط به *Escherichia coli* بودند که از این تعداد، ۳۸ مورد واجد ژن CTX-M بودند و بیشترین ژنوتیپ پیش‌گفته در سویه‌های *Escherichia coli* مشاهده شد (۲۳).

با توجه به تعداد نمونه‌های مولد ESBL و واجد ژن CTX-M و مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به سفوتاکسیم و سفنازیدیم در گروه

References

- Garner JS, Jarvis WR, Emori TG, Horan TC, Hughes JM. CDC definitions for nosocomial infections, 1988. *Am J Infect Control* 1988; 16(3): 128-40.
- Horan TC, Gaynes RP, Martone WJ, Jarvis WR, Emori TG. CDC definitions of nosocomial surgical site infections, 1992: a modification of CDC definitions of surgical wound infections. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1992; 13(10): 606-8.
- McGeer A, Campbell B, Emori TG, Hierholzer WJ, Jackson MM, Nicolle LE, et al. Definitions of infection for surveillance in long-term care facilities. *Am J Infect Control* 1991; 19(1): 1-7.
- Best J, Kitlowski AD, Ou D, Bedolla J. Diagnosis and management of urinary tract infections in the emergency department. *Emerg Med Pract* 2014; 16(7): 1-23.
- Mehdipour Moghaddam MJ, Mirbagheri AA, Salehi Z, Habibzade SM. Prevalence of Class 1 Integrons and Extended Spectrum Beta Lactamases among Multi-Drug Resistant *Escherichia coli* Isolates from North of Iran. *Iran Biomed J* 2015; 19(4): 233-9.
- Bradford PA. Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin Microbiol Rev* 2001; 14(4): 933-51, table.
- Arakawa Y, Shibata N, Shibayama K, Kurokawa H, Yagi T, Fujiwara H, et al. Convenient test for screening metallo-beta-lactamase-producing gram-negative bacteria by using thiol compounds. *J Clin Microbiol* 2000; 38(1): 40-3.
- Bonnet R. Growing group of extended-spectrum beta-lactamases: the CTX-M enzymes. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48(1): 1-14.
- Barthelemy M, Peduzzi J, Bernard H, Tancrede C, Labia R. Close amino acid sequence relationship between the new plasmid-mediated extended-spectrum beta-lactamase MEN-1 and chromosomally encoded enzymes of *Klebsiella oxytoca*. *Biochim Biophys Acta* 1992; 1122(1): 15-22.
- Bhaskar E. Clinical correlates of New Delhi metallo-beta lactamase isolates--a survey of published literature. *Indian J Med Res* 2012; 136(6): 1054-9.
- Forbes BA, Sahn DF, Weissfeld AS, Trevino E. *Bailey and Scott's diagnostic microbiology*. 10th ed. Philadelphia, PA: Mosby; 1998.
- Kim YK, Pai H, Lee HJ, Park SE, Choi EH, Kim J, et al. Bloodstream infections by extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in children: epidemiology and clinical outcome. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46(5): 1481-91.
- Lytsy B, Sandegren L, Tano E, Torell E, Andersson DI, Melhus A. The first major extended-spectrum B-lactamase outbreak in Scandinavia was caused by clonal spread of a multiresistant *Klebsiella pneumoniae* producing CTX-M-15. *APMIS* 2008; 116(4): 302-8.
- Kaspar T, Schweiger A, Droz S, Marschall J. Colonization with resistant microorganisms in patients transferred from abroad: who needs to be screened?

- Antimicrob Resist Infect Control 2015; 4: 31.
15. Bui TM, Hirai I, Ueda S, Bui TK, Hamamoto K, Toyosato T, et al. Carriage of Escherichia coli Producing CTX-M-Type Extended-Spectrum beta-Lactamase in Healthy Vietnamese Individuals. *Antimicrob Agents Chemother* 2015; 59(10): 6611-4.
 16. Celikbilek N, Gozalan A, Ozdem B, Kirca F, Acikgoz ZC. Extended-spectrum beta-lactamase production by Enterobacteriaceae isolates from urine cultures of outpatients: results of a 7-year follow-up. *Mikrobiyol Bul* 2015; 49(2): 259-65. [In Turkish].
 17. Machado E, Coque TM, Canton R, Novais A, Sousa JC, Baquero F, et al. High diversity of extended-spectrum beta-lactamases among clinical isolates of Enterobacteriaceae from Portugal. *J Antimicrob Chemother* 2007; 60(6): 1370-4.
 18. Coque TM, Baquero F, Canton R. Increasing prevalence of ESBL-producing Enterobacteriaceae in Europe. *Euro Surveill* 2008; 13(47).
 19. National Nosocomial Infections Surveillance System. National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System Report, data summary from January 1992 through June 2004, issued October 2004. *Am J Infect Control* 2004; 32(8): 470-85.
 20. Qi C, Pilla V, Yu JH, Reed K. Changing prevalence of Escherichia coli with CTX-M-type extended-spectrum beta-lactamases in outpatient urinary E. coli between 2003 and 2008. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2010; 67(1): 87-91.
 21. Shahid M., Monil S, Abida M, Indu S, Khan HM. ESBL phenotypes and prevalent genotype of CTX-M type beta lactamases in clinical isolates of E. coli in a North Indian tertiary care hospital. *Proceedings of the Microcon 2006 Conference; 2006 Oct 26-29; Nagpur, India.*
 22. Rahman NMW, Lutfur AB, Jhora ST, Yasmin M, Haq JA. Detection of CTX-M gene in extended spectrum beta lactamase (ESBL) producing Escherichia coli and Klebsiella species of different hospitals. *Bangladesh J Med Microbiol* 2012; 4(2): 28-31.
 23. Torshizi R, Zamanzad B, Mokhtareyan K, Karimi A. Determination of CTX-M genes in enterobacteriaceae producing extended-spectrum beta-lactamase using PCR method. *J Shahrekord Univ Med Sci* 2011; 13(3): 9-17. [In Persian].

Prevalence of CTX-M Genes in Escherichia Coli Strains in Outpatient and Inpatient Cases with Urinary Tract Infections in Isfahan, Iran

Mehdi Mobasherizadeh MSc¹, Seyed Kazem Bidoki PhD², Sina Mobasherizadeh PhD³

Original Article

Abstract

Background: Extended-spectrum beta-lactamase of CTX-M-type is considered as an important mechanism resistant to beta-lactam drugs in the gram-negative pathogens. In this study, the prevalence of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing Escherichia coli (E. coli) as well as the frequency of CTX-M genes from urinary tract infections in inpatients and outpatients caused by Escherichia coli in selected health centers in Isfahan, Iran, was studied in 2013.

Methods: The study was carried out on 120 E. coli isolates from inpatients and outpatients with urinary tract infection. The susceptibility of isolates was tested using disc diffusion method. The ESBL-producer strains were confirmed using combined discs method. Finally, the blaCTX-M gene was determined in ESBL-producer isolates using polymerase chain reaction (PCR) method. To identify the strains of E. coli producing CTX-M genes, PCR method was used. The collected data were entered and analyzed in WHONET 5.6 and Excel softwares.

Findings: From 120 strains of E. coli, 12 outpatient (20.0%) and 33 inpatient (55.0%) isolates were ESBL-producer. 84.4% and 60.1% of outpatient isolates and 94.9% and 84.8% of inpatient isolates showed resistance to ampicillin and co-trimoxazole, respectively. PCR analysis revealed that 30 isolates had CTX-M gene.

Conclusion: The production of ESBL, in particular in isolates of inpatients, is a big threat for use of the broad-spectrum cephalosporins. Given the presence of CTX-M gene in the high proportion of the isolates, more molecular and epidemiological studies on pathogenic bacteria in health centers is required to be able to have a common plan to control bacterial resistance.

Keywords: Urinary tract infection, Escherichia coli, CTX-M, ESBL

Citation: Mobasherizadeh M, Bidoki SK, Mobasherizadeh S. Prevalence of CTX-M Genes in Escherichia Coli Strains in Outpatient and Inpatient Cases with Urinary Tract Infections in Isfahan, Iran. J Isfahan Med Sch 2016; 33(360): 2020-5

1- Department of Genetics and Biotechnology, School of Sciences, Payame Noor University, Tehran, Iran

2- Assistant Professor, Department of Genetics and Biotechnology, School of Sciences, Payame Noor University, Tehran, Iran

3- Nosocomial Infection Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan Iran

Corresponding Author: Seyed Kazem Bidoki PhD, Email: drbidoki@yahoo.com

رجیستر کردن تصاویر Optical Coherence Tomography دیسک نوری و تصاویر فوندوس با استفاده از

الگوریتم‌های SURF و RANSAC

عالیه عهدی^۱، دکتر حسین ربانی^۲، دکتر علیرضا ورد^۲

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: رجیستر کردن تصاویر فرآیندی است که در آن دو تصویر از یک ناحیه که دارای شرایط یا زمان‌های تصویربرداری متفاوتی هستند و یا با دستگاه‌های متفاوتی گرفته شده‌اند، برای دستیابی به اطلاعات دقیق‌تر و جزئی‌تر بر هم منطبق می‌شوند. هدف از انجام این مطالعه، رجیستر کردن تصاویر سه بعدی OCT (Optical coherence tomography) دیسک نوری و تصاویر فوندوس بود.

روش‌ها: داده‌های مطالعه‌ی حاضر با استفاده از دستگاه 3D-OCT1000 مدل Topcon از بیمارستان فیض اصفهان جمع‌آوری گردید و شامل تصاویر سه بعدی OCT دیسک نوری و دو بعدی رنگی فوندوس چشم بود. تحقیق بر روی ۴۰ داوطلب با چشم طبیعی انجام گرفت. در اولین مرحله با میانگین‌گیری از سطوح تصاویر سه بعدی دیسک نوری، پروجکشن آن‌ها به دست آمد، سپس نقاط و بردارهای ویژگی رگ‌های استخراج شده‌ی تصاویر دو بعدی پروجکشن و بردارهای ویژگی با هم مطابقت داده شدند. با استفاده از الگوریتم RANSAC (Random sample consensus)، نقاط غیر تطابق با تخمین بهترین تابع تبدیل حذف گردید و در نهایت انتقال، مقیاس و زاویه‌ای که برای تغییر تصاویر OCT دیسک نوری به منظور رجیستر کردن با تصاویر فوندوس مورد نیاز بود، به دست آمد.

یافته‌ها: بهترین شاخص‌ها برای داده‌های مطالعه‌ی آستانه‌ی تطابق در روش SURF (Speeded-Up Robust Features) برابر با ۱۰۰ و بیشینه‌ی فاصله‌ی بین نقاط در روش RANSAC برابر با ۱۵ بود که خطای میانگین مربعات (Mean square error یا MSE) آن‌ها به ترتیب ۰/۰۲۷۲ و ۰/۰۲۶۸ به دست آمد. همچنین، به علت عدم وجود تبدیل پروجکشن حاضر بین داده‌های OCT و فوندوس و برای تخمین RANSAC، استفاده از تابع شباهت که تنها مقادیر انتقال، چرخش و مقیاس را تنظیم می‌نماید، به نتایج بهتری منجر خواهد شد. حاصل خطای کلی برای ۴۰ داده‌ی چشم طبیعی با انتخاب مقادیر شاخص‌های بهینه، 0.038 ± 0.268 به دست آمد.

نتیجه‌گیری: رجیستر کردن تصاویر پروجکشن OCT و تصاویر فوندوس رنگی، به طوری که بتوان اطلاعات تصویر OCT و تصویر فوندوس را ترکیب نمود، می‌تواند اطلاعات آناتومیک ارزشمندی از چشم در اختیار چشم‌پزشکان قرار دهد.

واژگان کلیدی: تصاویر Optical coherence tomography (OCT)، دیسک نوری، رجیستر کردن، الگوریتم Speeded-Up Robust Features (SURF)، الگوریتم Random sample consensus (RANSAC)

ارجاع: عهدی عالیه، ربانی حسین، ورد علیرضا. رجیستر کردن تصاویر Optical Coherence Tomography دیسک نوری و تصاویر فوندوس

با استفاده از الگوریتم‌های SURF و RANSAC. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۴؛ ۳۳ (۳۶۰): ۲۰۲۵-۲۰۲۶

(Optic disc) نیز خوانده می‌شود، منطقه‌ی دایره‌ای شکل و روشن در تصاویر فوندوس شبکیه است (۱). زمانی که آکسون‌ها و سلول‌های گانگلیون آسیب می‌بینند، عملکرد دیسک نوری مختل می‌شود و منجر به نقص در دید شخص خواهد شد (۲-۳). بر اساس آسیب‌ها و بیماری‌های زیادی که دیسک نوری و شبکیه‌ی چشم را تهدید می‌کند، بررسی تصاویر توموگرافی هم‌دوس نوری (Optical coherence tomography یا OCT) از دیسک

مقدمه

شبکیه داخلی‌ترین لایه‌ی چشم و شامل سلول‌های گیرنده‌ی نور و سلول‌های عصبی می‌باشد. این لایه‌ی بسیار نازک، ۷۵ درصد مساحت کره‌ی چشم را می‌پوشاند. سر عصب بینایی (Optic nerve head) قسمتی از شبکیه است که در آن رشته‌های عصبی شبکیه از سطح آن به داخل عصب بینایی تغییر مسیر عمودی می‌دهند و از چشم خارج می‌شوند. این قسمت از شبکیه که اغلب با عنوان دیسک نوری

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه مهندسی پزشکی، دانشکده‌ی فن‌آوری‌های نوین علوم پزشکی و کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- دانشیار، گروه مهندسی پزشکی، دانشکده‌ی فن‌آوری‌های نوین علوم پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

Email: h_rabbani@med.mui.ac.ir

نویسنده‌ی مسؤؤل: دکتر حسین ربانی

گردید و نقاط تطابق دو تصویر مرجع و هدف با استفاده از آستانه‌گذاری به دست آمد. پس از آن، سه مدل متفاوت [شباهت (Similarity)، Affine و درجه‌ی دو (Quadratic)] برای نمونه‌های چشم طبیعی و بیمار مقایسه شد. بهترین نتیجه برای رجیستر کردن تصاویر چشم طبیعی از مدل درجه‌ی دو (۹) و برای چشم بیمار به علت تشخیص رگ‌های کمتر، از مدل شباهت حاصل گردید (۱۰).

در پژوهش دیگری از رجیستر کردن تصاویر OCT به عنوان ابزاری برای دقت بیشتر و مقایسه‌ی کمی مراحل بیماری چشم استفاده گردید و برای رجیستر کردن نیز الگوریتم SIFT (Scale-invariant feature transform) به کار برده شد. در این روش برای یافتن نقاط ویژگی، بیشینه و کمینه کردن فضای مقیاس Gaussian که برای SIFT در نظر گرفته می‌شود، مورد استفاده قرار گرفت. سپس با استفاده از نمودار هیستوگرام، جهت‌های شیب محلی در اطراف اکسترمم در نظر گرفته شده‌ی بردار ویژگی با ۴۰۹۶ عنصر توصیف گردید. نقاط تطابق با مقایسه‌ی فاصله‌ی میان بردارهای ویژگی پیدا می‌شود. در مطالعه‌ی مذکور، رجیستر کردن بر روی تصاویر تداخلی ONH (Optic nerve head) و ماکولا که از یک بیمار گرفته شده بود، انجام شد (۱۱).

در مطالعه‌ی حاضر از الگوریتم‌های رجیستر کردن بر اساس ویژگی برای رجیستر کردن تصاویر OCT دیسک نوری و تصاویر رنگی فوندوس استفاده شد. بدین ترتیب که ابتدا پروجکشن تصاویر OCT دیسک نوری به دست آمد و رگ‌های تصاویر حاصل شده و تصاویر فوندوس استخراج گردید. تصویر رگ‌های پروجکشن OCT به عنوان تصویر هدف و تصویر فوندوس به عنوان تصویر مرجع برای رجیستر کردن انتخاب شد. با استفاده از آشکارساز ویژگی SURF و الگوریتم RANSAC، روش نوینی برای رجیستر کردن تصاویر OCT به دست آمد. ویژگی برتر الگوریتم SURF نسبت به آشکارسازهای دیگر، تغییرناپذیری نسبت به مقیاس و چرخش می‌باشد که آن را از سایر آشکارسازهای ویژگی متمایز می‌سازد. همچنین، به علت استفاده از ماتریس Hessian در روش SURF، این آشکارساز پایدار و قابل تکرار می‌باشد. در این روش به علت استفاده از انتگرال تصویر، زمان محاسبات بسیار کاهش می‌یابد. به علت قابلیت تکرارپذیری در روش RANSAC، تعداد نقاطی که با استفاده از این روش با یکدیگر تطابق می‌یابند، نسبت به روش‌های دیگر بیشتر است که به عنوان مزیت برای این روش محسوب می‌شود.

روش‌ها

داده‌های مطالعه‌ی حاضر با استفاده از سیستم تصویربرداری 3D-OCT 1000 (مدل Topcon) از ۴۰ فرد با چشم طبیعی

نوری و تصاویر فوندوس و سنجش ارتباط آن‌ها و محل قرارگیری آن بر شبکیه، برای متخصصان و پزشکان جهت تشخیص بیماری‌های چشمی و سرعت بخشیدن به بهبودی آن حایز اهمیت خواهد بود. یکی از مهم‌ترین راه‌های رسیدن به این اهداف، رجیستر کردن (Registration) تصاویر OCT و تصاویر فوندوس می‌باشد. علاوه بر این، رجیستر کردن تصاویر ذکر شده به منظور کالیبراسیون دستگاه‌های تصویربرداری OCT اهمیت ویژه‌ای دارد. سیستم تصویربرداری OCT با استفاده از اصول اندازه‌گیری طول موج و بررسی تداخل اشعه‌های نور (ایترنومتری) (Interferometry) می‌تواند تصاویر دو یا سه بعدی با رزولوشن بالا را از مقطع آناتومیک شبکیه ایجاد نماید. همچنین، با استفاده از تصویر فوندوس می‌توان یک عکس دو بعدی رنگی از سطح داخلی چشم از جمله شبکیه، دیسک نوری، ماکولا و قطب خلفی ایجاد نمود.

رجیستر کردن تصویر، روند تبدیل مجموعه‌های متفاوتی از داده به یک سیستم مختصات واحد می‌باشد (۴). داده‌ها ممکن است عکس‌های متعدد، اطلاعات از سنسورها، زمان‌ها، عمق‌ها یا دیدگاه‌های مختلف باشد. طبق مطالعات انجام شده، الگوریتم‌های رجیستر کردن تصویر را می‌توان به دو دسته‌ی روش‌های بر اساس ویژگی و یا بر اساس شدت تقسیم‌بندی کرد (۵). در فرایند رجیستر کردن، یک تصویر به عنوان تصویر مرجع یا منبع و تصویر دیگر به عنوان هدف یا سنجش در نظر گرفته می‌شود. هدف از رجیستر کردن، تراز و یا ثبت تصویر هدف بر تصویر مرجع می‌باشد. روش‌های مبتنی بر شدت، الگوهای شدت در تصاویر را از طریق معیارهای همبستگی (Correlation metrics) مقایسه می‌کند؛ در حالی که روش‌های مبتنی بر ویژگی، مطابقت میان ویژگی‌های تصویر مانند نقاط، خطوط و کانتورها را پیدا می‌کند (۶).

برخی از الگوریتم‌های تطبیق ویژگی، برگرفته از تکنیک‌های سنتی برای انجام دستی رجیستر کردن تصاویر هستند که در آن اپراتور، نقاط کنترل مربوط (Corresponding control points) در تصاویر را انتخاب می‌کند و در بعضی دیگر به صورت اتوماتیک با استفاده از آشکارسازهای ویژگی همچون آشکارساز SURF (Speeded-Up Robust Features)، نقاط ویژگی انتخاب می‌شود. هنگامی که تعداد نقاط کنترل از حداقل مورد نیاز برای تعریف مدل تبدیل مناسب بیشتر باشد، الگوریتم‌هایی مانند RANSAC (Random sample consensus) می‌تواند برای یک نوع تبدیل خاص (مانند Affine) بهترین نقاط قابل اعتماد را استخراج نماید (۷-۸، ۵).

در مطالعه‌ای که تصاویر OCT و تصویر فوندوس رنگی رجیستر شدند، از بیشینه‌سازی تابع شباهت میان این تصاویر استفاده

جمع‌آوری شد.

مطابق با بلوک دیاگرام نشان داده شده در شکل ۲، مراحل رجیستر کردن صورت می‌گیرد. قسمت اول بلوک دیاگرام تا بلوک مطابقت مربوط به الگوریتم SURF و قسمت دوم مربوط به الگوریتم RANSAC می‌باشد؛ بدین صورت که با استفاده از روش SURF نقاط ویژگی در دو تصویر مرجع و هدف مشخص و بردارهای ویژگی برای این نقاط استخراج می‌شود و این نقاط با استفاده از روش نزدیک‌ترین همسایه و با استاندارد SSD (Sum of squared differences) با هم مطابقت می‌گردند. سپس با استفاده از الگوریتم RANSAC، بهترین نقاط تطبیق یافته انتخاب و شاخص‌های رجیستر کردن با استفاده از آن‌ها و بر اساس مدل انتخابی، محاسبه می‌شوند.

الگوریتم SURF

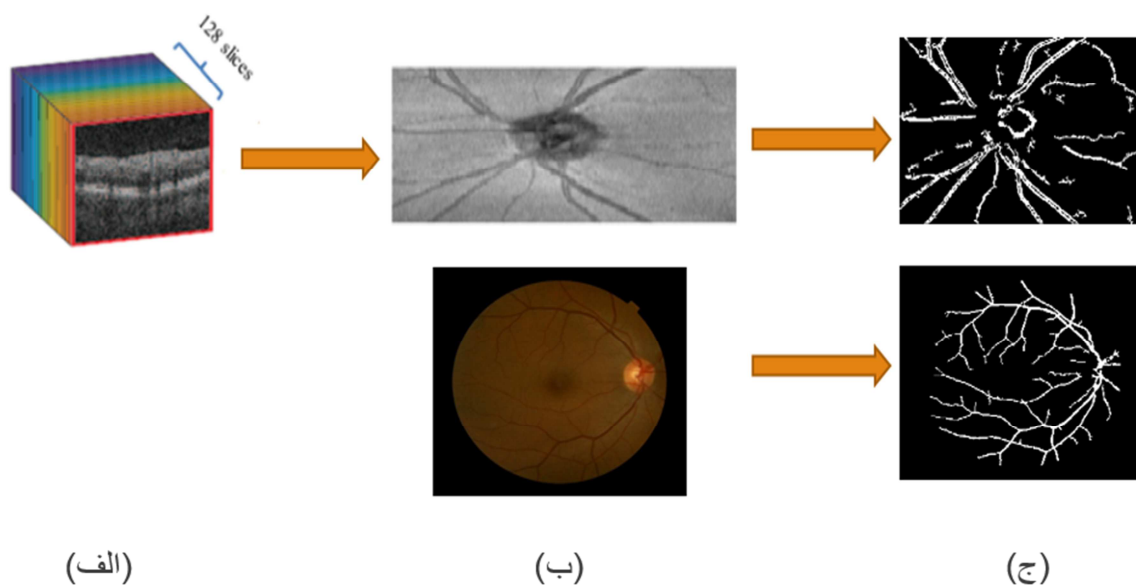
مراحل روش SURF عبارت از «تعیین نقاط ویژگی، دادن جهت و اختصاص بردار ویژگی و تطابق» می‌باشد.

به طور کلی یک روش برای رسیدن به تغییرناپذیری مقیاس، بررسی تصویر در مقیاس‌های متفاوت است که هر کدام فضای مقیاس نامیده می‌شود و این امر با به کار بردن هسته‌ی Gaussian محقق می‌گردد. روش SURF فضاهای مقیاس را به سطوح و اکتاو (Octave) تقسیم می‌کند. یک اکتاو به دو برابر شدن σ مربوط است و به سطوحی با فواصل یکنواخت تقسیم می‌شود. SURF یک هرم از نقشه‌های پاسخ با سطوح مختلف در اکتاو ایجاد می‌کند. الگوریتم SURF برای رسیدن به نقاط ویژگی، تصویر را در

داده‌های سه بعدی دیسک نوری دارای اندازه‌ی $650 \times 512 \times 128$ Voxel و رزولوشن مکانی $11/72 \times 46/88 \times 3/54$ میکرومتر بود. داده‌های دو بعدی اخذ شده از همان دستگاه، دارای تصاویر رنگی فوندوس چشم و اندازه‌ی 1536×1612 Voxel بود (۱۲). در مرحله‌ی پیش‌پردازش، با استفاده از میانگین‌گیری از سطوح تصاویر سه بعدی OCT دیسک نوری (میانگین‌گیری از ۱۲۸ سطح)، پروجکشن تصاویر OCT به دست آمد تا بتوان رجیستر کردن تصویر دو بعدی فوندوس به تصویر دو بعدی OCT را پیدا کرد (شکل ۱). با استفاده از الگوریتم استخراج رگ، رگ‌های تصاویر پروجکشن و فوندوس رنگی متناظر با هر کدام از آن‌ها استخراج می‌شود. گام‌های این الگوریتم به صورت خلاصه به شرح زیر می‌باشد (۱۳):

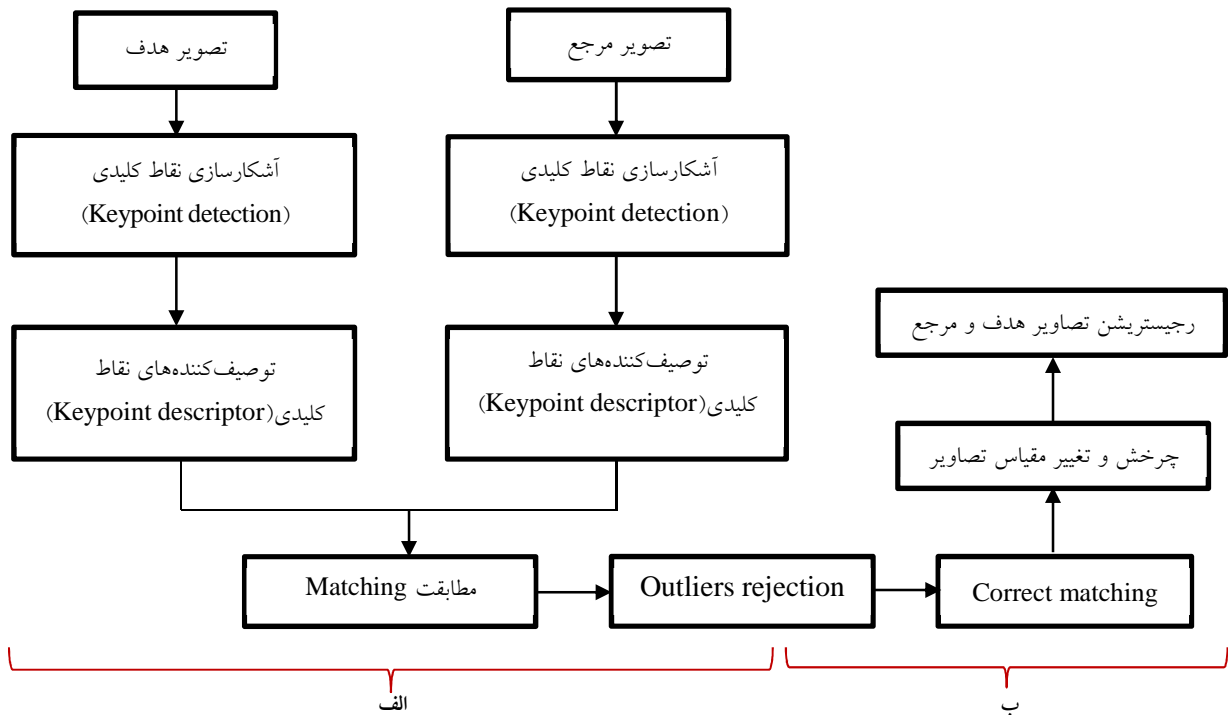
- ۱- پیش‌پردازش تصویر برای تقویت رگ‌های کوچک و نازک
- ۲- استفاده از تبدیل Curvelet بر روی تصاویر پیش‌پردازش شده به منظور رسیدن به تصاویر جهت‌دار
- ۳- محاسبه‌ی مقادیر ویژه و ماتریس Hessian و سپس مشتق مرتبه‌ی دوم تصاویر جهت‌دار
- ۴- تجزیه و تحلیل مقادیر ویژه و ویژگی‌های شدت و طول برای تأیید و عدم تأیید رگ‌های اولیه.

تصاویر رگ‌های استخراج شده‌ی فوندوس و پروجکشن به ترتیب به عنوان تصویر مرجع و تصویر هدف برای رجیستر کردن در نظر گرفته می‌شوند. پس از در نظر گرفتن تصویر هدف و مرجع



شکل ۱. مراحل استخراج رگ‌های تصاویر مرجع و هدف

قسمت الف: نمای سه بعدی OCT (Optical coherence tomography) دیسک نوری، قسمت ب: در بالا نمای پروجکشن OCT دیسک نوری و در پایین نمای دو بعدی فوندوس رنگی و قسمت ج: نمای رگ‌های پروجکشن و فوندوس

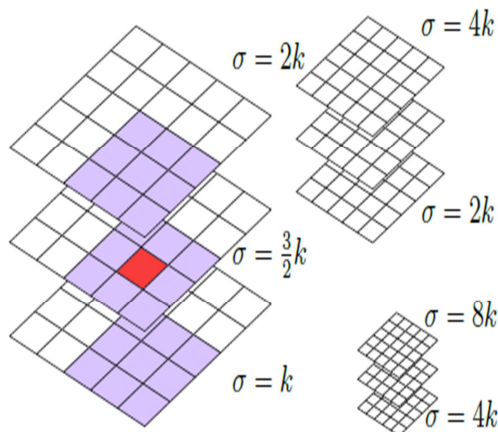


شکل ۲. بلوک دیاگرام رجیستر کردن

قسمت الف: بلوک های الگوریتم SURF (Speeded-Up Robust Features) و قسمت ب: بلوک های الگوریتم RANSAC (Random sample consensus)

شکل ۳ نشان داده شده است. پیکسل قرمز رنگ، نقطه‌ی ویژگی مورد نظر را نشان می‌دهد.

$$I(x) = \sum_{i=0}^{i < x} \sum_{j=0}^{j < y} I(x, y) \quad \text{رابطه‌ی ۴}$$



شکل ۳. نمایی از اکتاوهای متفاوت (۱۴)

برای استخراج ویژگی (توصیف‌گر)، ابتدا لازم است جهت‌ی به نقاط مورد نظر اختصاص یابد. بدین منظور پاسخ‌های Haar wavelet (۱۵) در جهت‌های X و Y در داخل همسایگی

مقیاس‌های متفاوت با استفاده از هسته‌ی Gaussian با واریانس σ در نظر می‌گیرد. در نهایت نقاط مورد نظر، نقاط خروجی حذف‌کننده‌ی مقادیر غیر بیشینه‌ی (Non-maximal-suppression) دترمینان ماتریس Hessian می‌باشند که در یک سطح و در میان ۸ نقطه‌ی همسایگی و ۹ نقطه از سطح بالایی و ۹ نقطه از سطح پایین اعمال می‌گردد (ماتریس Hessian با استفاده از کانولوشن تصویر با مشتقات جزئی مرتبه‌ی دوم هسته‌ی Gaussian و واریانس σ حاصل می‌شود). ماتریس Hessian طبق ماتریس نشان داده شده در رابطه‌ی ۱ و درایه‌های آن طبق رابطه‌های ۲ و ۳ می‌باشد.

$$H(x, \sigma) = \begin{bmatrix} L_{xx}(x, \sigma) & L_{xy}(x, \sigma) \\ L_{xy}(x, \sigma) & L_{yy}(x, \sigma) \end{bmatrix} \quad \text{رابطه‌ی ۱}$$

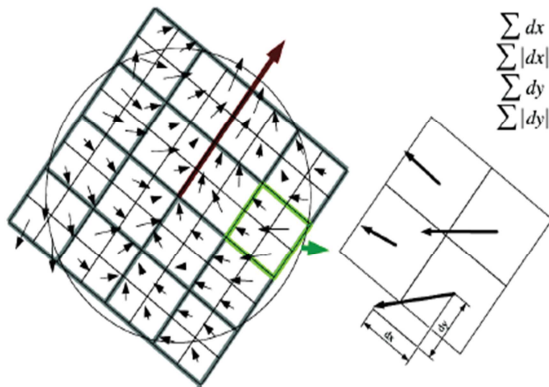
$$L_{xx}(x, \sigma) = I(x) * \delta^2 / \delta x^2 g(\sigma) \quad \text{رابطه‌ی ۲}$$

$$L_{xy}(x, \sigma) = I(x) * \delta^2 / \delta xy g(\sigma) \quad \text{رابطه‌ی ۳}$$

همچنین، برای سرعت بخشیدن به روند کار از انتگرال تصاویر استفاده می‌شود. در واقع $I(x)$ تصویری است که در آن هر نقطه به صورت مجموع همه‌ی پیکسل‌ها در ناحیه‌ی مستطیلی با اندیس‌های کوچک‌تر از مختصات نقطه‌ی مورد نظر ذخیره می‌شود. انتگرال تصویر در رابطه‌ی ۴ آمده است. نمونه‌ای از سطوح همسایگی در

$$D(I_j, T) = \sum_{i=1}^n |I_{ij} - T_i|^2$$

رابطه ی ۶



شکل ۴. نحوه ی ایجاد توصیف گر (۱۶)

الگوریتم SURF برای مراحل ذکر شده با استفاده از توابع Extract features, Detect SURF features و Match features تحقق می یابد. تنظیمات کلیدی برای توابع ذکر شده مطابق با جدول ۱ برای اجرا در مطالعه ی حاضر می باشد. شاخص Metric threshold عدد مثبتی است که آستانه ای را برای انتخاب قوی ترین ویژگی ها مشخص می کند. شاخص Method روش انتخابی تطابق بردارهای ویژگی را مشخص می کند و معیار اندازه گیری آن، پارامتر Metric است که در قسمت پیش توضیح داده شد. Match threshold عددی بین ۰ تا ۱۰۰ می باشد و آستانه ای برای انتخاب قوی ترین تطابق ها به شمار می رود. Pre-normalized شاخصی برای تشخیص نرمال بودن بردارهای ویژگی است که True به معنی نرمال بودن بردارهای ویژگی و False به این معنی است که بردارها نیاز به نرمال سازی دارند.

الگوریتم RANSAC

پس از تطابق تصاویر مرجع و هدف، تطابق های نامطلوب با استفاده از روش RANSAC حذف و تطابق های نهایی به دست آمد. روش RANSAC یک روش تکراری برای تخمین شاخص های مدل ریاضی از روی اطلاعات موجود می باشد. روند این الگوریتم به صورت گام های ۱ تا ۵ است (۱۸):

جدول ۱. تنظیمات کلیدی الگوریتم SURF (Speeded-Up Robust Features)

شاخص	نوع شاخص و یا مقدار انتخابی در تحقیق حاضر	نوع شاخص و یا مقدار انتخابی پیش فرض
Metric threshold	۱۰۰	۱۰۰۰
Method	Nearest neighbor symmetric	Nearest neighbor ratio
Metric	SSD	SSD
Match threshold	۸۰	۱۰
Prenormalized	True	False

SSD: Sum of squared differences

دایره ای به شعاع ۶۸ در اطراف نقطه ی کلیدی محاسبه می شود. S مقیاسی است که نقطه ی کلیدی در آن مقیاس آشکار شده است. جهت اصلی با محاسبه ی مجموع همه ی پاسخ ها داخل پنجره ی جهتی لغزان با اندازه ی $\frac{\pi}{3}$ تخمین زده می شود. جهت در هر پنجره با محاسبه ی مجموع پاسخ ها در جهت افقی و عمودی به طور جداگانه محاسبه می شود که منجر به بردار جهت محلی در پنجره می گردد. بلندترین جهت در تمام پنجره ها نشان دهنده ی جهت اصلی می باشد. پس از مشخص شدن جهت، ناحیه ی مربعی با اندازه ی $20s \times 20s$ در اطراف نقطه ی کلیدی در نظر گرفته می شود. سپس، این ناحیه در امتداد جهت انتخابی چرخانده می شود. ناحیه ی انتخابی مانند شکل ۴ به زیرنواحی مربعی 4×4 تقسیم می گردد که هر زیرناحیه دارای ابعاد 5×5 است. پاسخ های Haar wavelet در جهت افقی d_x و عمودی d_y محاسبه می شود که جهت افقی و عمودی نسبت به جهت انتخابی نقطه ی کلیدی سنجیده می شود. سپس پاسخ های Haar wavelet d_x و d_y در هر زیرناحیه با هم جمع شده، مجموعه ی اولیه ای از بردار ویژگی را تشکیل می دهد. به منظور دسترسی به اطلاعاتی در مورد پلاریته ی تغییرات شدت، قدر مطلق این مقادیر نیز محاسبه می شود (رابطه ی ۵).

بنابراین، در هر زیرناحیه، یک بردار توصیف گر ۴ بعدی تشکیل می شود. با در نظر گرفتن نواحی 4×4 ، این نتایج منجر به توصیف گری با بعد ۶۴ (SURF-۶۴) خواهد شد (۱۶).

$$v = (\sum d_x, \sum d_y, \sum |d_x|, \sum |d_y|) \quad \text{رابطه ی ۵}$$

برای تطابق بردارهای توصیف گر در تحقیق حاضر، از روش نزدیک ترین همسایگی متقارن (Nearest neighbor symmetric) با استاندارد SSD استفاده شد. در این روش ابتدا دسته ای از نزدیک ترین توصیف گر ها از تصویر مرجع برای هر کدام از توصیف گر های تصویر هدف استخراج می گردد. در ادامه دوباره این کار تکرار می شود. سپس، با محاسبه ی استاندارد SSD با استفاده از رابطه ی ۶ و کمینه ی در نظر گرفتن پاسخ، تطابق بین دو بردار ویژگی صورت می گیرد (۱۷).

که n تعداد نمونه گرفته شده در هر تکرار و p احتمال نقاط تطابق یافته درست و P احتمال حداقل یک موفقیت بعد از k بار آزمایش می‌باشد (۲۰-۱۹).

با توجه به رابطه‌ی ذکر شده برای به دست آوردن تعداد مراحل تکرار، رابطه‌ی ۶ به دست می‌آید که در آن $P = 0.9$ می‌باشد (۲۱).

$$k = \frac{\log(1-P)}{\log(1-pn)} \quad \text{رابطه‌ی ۶}$$

الگوریتم RANSAC در نرم‌افزار Matlab با استفاده از دستور EstimateGeometricTransform محقق می‌شود (۲۲). تنظیمات کلیدی مورد استفاده طبق جدول ۲ برای داده‌های مطالعه در نظر گرفته شد. شاخص Transform type نوع تابع تبدیل تخمین زده شده با استفاده از RANSAC را مشخص می‌کند. MaxDistance فاصله‌ی میان نقاط تطابق را نشان می‌دهد و MaxNum Trials تعداد دفعات تکرار روش را که همان k در رابطه‌ی ذکر شده است، نشان می‌دهد.

در نهایت، از روی تابع تبدیل بهینه که از روش RANSAC به دست می‌آید، انتقال، زاویه و مقیاس برای تغییر تصویر هدف و رجیستر شدن آن با تصویر فوندوس حاصل می‌شود. انتقال، زاویه و مقیاس به دست آمده، بر روی بعدی از تصویر هدف که پروجکشن از آن حاصل شده است، اعمال می‌گردد و در نهایت به رجیستر کردن تصویر OCT دیسک نوری و فوندوس می‌رسد. بدین طریق می‌توان به ارتباط میان این تصاویر دست یافت.

یافته‌ها

نتایج حاصل از به کارگیری الگوریتم SURF بر روی تصاویر رگ‌های استخراج شده پروجکشن دیسک نوری و فوندوس برای داده‌ی شکل ۱ که به ترتیب به عنوان تصویر هدف و مرجع انتخاب شده، به صورت نمونه در شکل ۵ آمده است.

نتایج حاصل از روش RANSAC به منظور تعیین تطابق‌های درست برای همان چشم در شکل ۶ ارائه شده است. همچنین، یافته‌های رجیستر کردن با استفاده از RANSAC برای تصاویر هدف در همان داده‌ی قبلی (شکل ۷) و دو داده‌ی طبیعی دیگر (شکل ۸) به عنوان نمونه نشان داده شده است.

گام اول: انتخاب تصادفی سه نقطه و تخمین تابع تبدیل اولیه
گام دوم: بررسی صحت تابع تبدیل با استفاده از نقاط دیگر
گام سوم: در صورتی که نقاط مورد تأیید از نصف نقاط ویژگی تصویر زیادتر نباشند، دوباره تابع تبدیل جدید از روی نقاط تصادفی جدید تخمین زده می‌شود.

گام چهارم: تکرار گام سوم تا رسیدن به تابع تبدیل مناسب جهت حذف نقاط تطابق غیر صحیح

گام پنجم: محاسبه‌ی خطای مدل به وسیله‌ی خطای حاصل از نقاط صحیح تشخیص داده شده و انتخاب مدل مناسب
در واقع اگر نقاط انتخابی از کل نقاطی که با استفاده از روش نزدیک‌ترین همسایه تطابق یافتند، در تصویر مرجع به صورت $[x_1, y_1]$, $[x_2, y_2]$ و $[x_3, y_3]$ و سه نقطه در تصویر هدف به صورت $[x'_1, y'_1]$, $[x'_2, y'_2]$ و $[x'_3, y'_3]$ در نظر گرفته شود، ۶ معادله و ۶ مجهول ایجاد می‌گردد.

$$ax_1 + by_1 + c = x'_1 \quad dx_1 + ey_1 + f = y'_1 \quad \text{رابطه‌ی ۱}$$

$$ax_2 + by_2 + c = x'_2 \quad dx_2 + ey_2 + f = y'_2 \quad \text{رابطه‌ی ۲}$$

$$ax_3 + by_3 + c = x'_3 \quad dx_3 + ey_3 + f = y'_3 \quad \text{رابطه‌ی ۳}$$

ماتریسی که از سه معادله و سه مجهول ذکر شده در بالا به منظور رسیدن به تابع تبدیل تخمینی برای روش RANSAC ایجاد می‌شود، به صورت رابطه‌ی ۴ است.

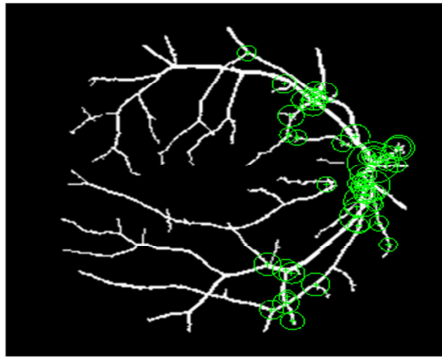
$$\begin{bmatrix} x_1 & y_1 & 1 \\ x_2 & y_2 & 1 \\ x_3 & y_3 & 1 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} a \\ b \\ c \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} x'_1 \\ y'_2 \\ x'_3 \end{bmatrix} \quad \text{رابطه‌ی ۴}$$

با به دست آوردن شاخص‌های a , b و c ، اولین تابع تبدیل مورد نظر به دست می‌آید و سپس، طبق گام‌های دوم و سوم که در بالا ذکر شد، این تابع بر روی نقاط تطابقی دیگر نیز اعمال می‌شود و در این مرحله، آستانه‌گذاری مورد استفاده قرار می‌گیرد. برای رسیدن به دفعات تکرار از رابطه‌ی ۵ استفاده می‌شود:

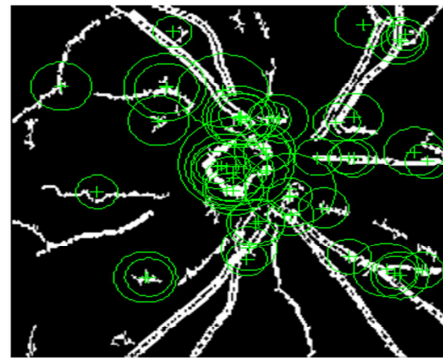
$$P = 1 - (1 - p^n)^k \quad \text{رابطه‌ی ۵}$$

جدول ۲. تنظیمات الگوریتم RANSAC (Random sample consensus)

نوع شاخص و یا مقدار انتخابی پیش فرض	نوع شاخص و یا مقدار انتخابی در تحقیق حاضر	شاخص
Affine	مشابهت (Similarity)	Transform type
۱/۵	۱۵	MaxDistance
۱۰۰۰	۱۰۰۰۰	MaxNum Trials

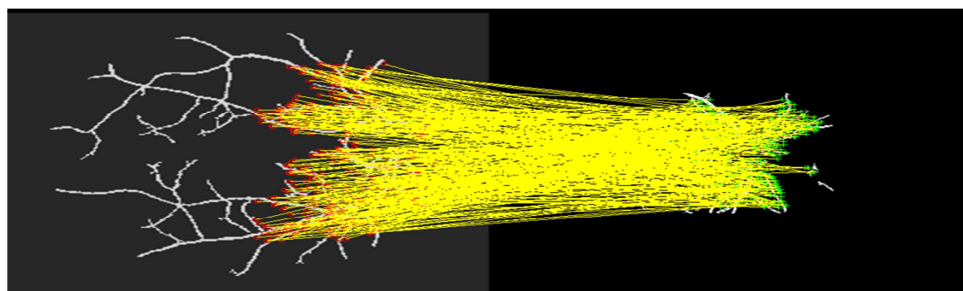


(ب)

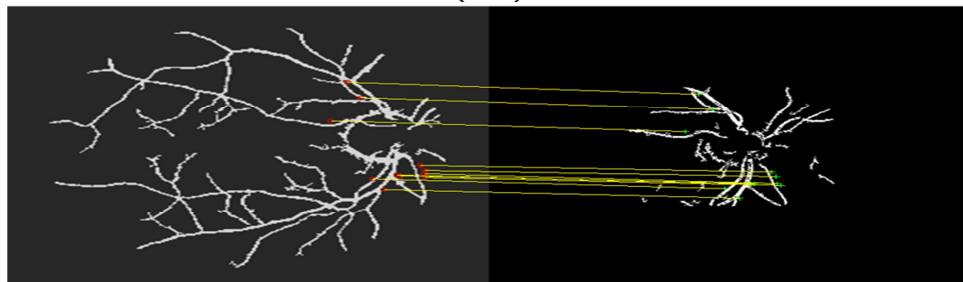


(الف)

شکل ۵. نتایج به کارگیری الگوی (Speeded-Up Robust Features) SURF



(الف)



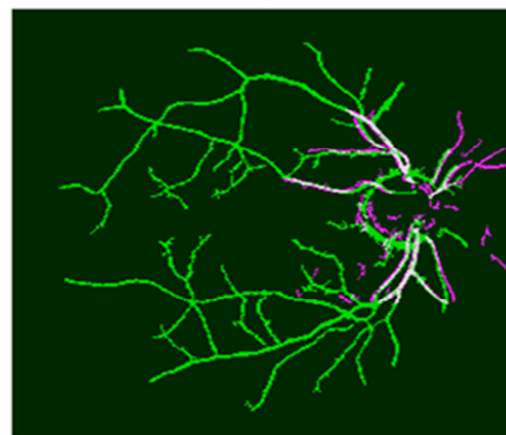
(ب)

شکل ۶. قسمت الف: تمامی نقاط تطابق یافته و قسمت ب: نقاط تطابق صحیح که برای داده‌ی شکل قبل با استفاده از RANSAC (Random sample consensus) انتخاب شده‌اند.

زاویه، مقیاس، خطای میانگین مربعات (Mean square error) یا (MSE)، انتقال در راستای محور افقی (T_x) و انتقال در راستای محور عمودی (T_y) برای یک نمونه‌ی چشم طبیعی (شکل ۷) در شرایطی که Match threshold مقادیر مختلفی دارد، در جدول ۳ ارائه شده است. همان‌گونه که داده‌های جدول نشان می‌دهد، خطا برای Match threshold = ۱۰۰۰ کمترین مقدار بود.

در جدول ۴، میزان MSE برای مقادیر مختلف MaxDistance (که مقدار فاصله‌ی میان نقاط در RANSAC را نشان می‌دهد) برای همان داده آورده شده است که حداقل خطا در MaxDistance = ۱۵ به دست آمد.

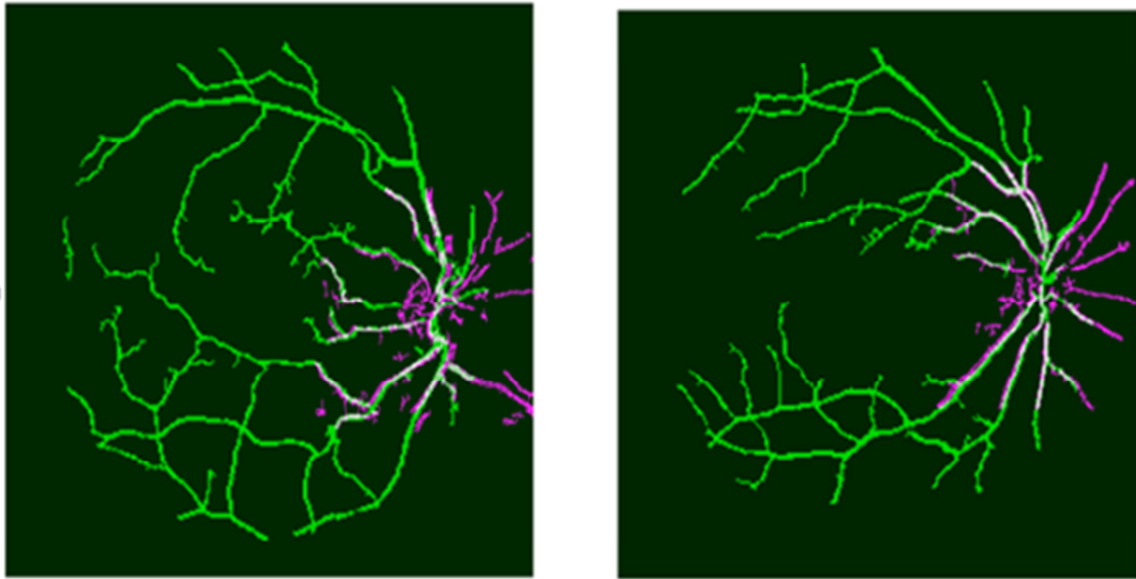
در جدول ۵، مقدار خطای دو تابع تبدیل شباهت و Affine با



شکل ۷. نتایج حاصل از رجیستر کردن برای داده‌ی شکل قبل

محاسبه‌ی کم برای رجیستر کردن می‌باشد و به همین علت، زمان رجیستر کردن با SURF و RANSAC (۱۵/۰۵۹ ثانیه) بسیار کمتر از روش همبستگی (Correlation) (۲۲۳/۸۳۵ ثانیه) برای یک داده بود. این دو نمونه با استفاده از سیستم مدل DELL (VOSTRO 1520) و حافظه‌ی ۴ گیگابایتی مقایسه شدند. نتایج بصری رجیستر کردن با دو روش مذکور در شکل ۹ آمده است.

MaxDistance متفاوت برای داده‌ی مورد نظر ارزیاب شده است. به طور کلی، برای ۴۰ داده‌ی چشم سالم و با Match threshold، MaxDistance و تابع تبدیل شباهت (که طبق جداول ذکر شده مقادیر و تابع بهینه هستند)، خطای میانگین مربعات 0.0038 ± 0.0268 به دست آمد. همان‌گونه که پیش‌تر توضیح داده شد، مزیت استفاده از روش اتوماتیک در مطالعه‌ی حاضر، زمان



شکل ۸. نتایج حاصل از رجیستر کردن برای دو داده به صورت نمونه

جدول ۳. زاویه، مقیاس و خطای به دست آمده از تغییر آستانه‌ی مرحله‌ی مطابقت ویژگی برای یک تصویر

۱۰۰	۹۰	۸۰	۷۰	۶۰	۵۰	Match threshold
۰/۹۱۲۳	۱/۹۶۶۳	۲/۸۷۱۲	۴/۱۷۲۱	۰/۸۴۸۳	۰/۸۷۱۲	زاویه
۰/۹۴۰۴	۱/۰۰۰۵	۱/۰۱۸۲	۱/۰۰۵۷	۰/۹۴۰۵	۱/۰۱۸۲	مقیاس
۰/۰۲۷۲	۰/۰۲۸۸	۰/۰۳۰۰	۰/۰۲۸۴	۰/۰۲۷۳	۰/۰۳۰۰	MSE
-۳۴۶/۲۹۱۲	-۳۴۶/۰۵۵۸	-۳۳۹/۲۴۷۶	-۳۴۱/۱۵۰۵	-۳۳۴/۳۱۲۸	-۳۵۲/۳۵۱۲	T _x
-۱۶۵/۱۹۳۷	-۱۵۹/۷۰۲۹	-۱۵۴/۷۲۷۹	-۱۶۰/۷۸۷۹	-۱۶۲/۸۴۸۰	-۱۵۷/۸۰۳۶	T _y

MSE: Mean square error

جدول ۴. خطای به دست آمده از تغییرات فاصله‌ی میان نقاط در RANSAC (Random sample consensus)

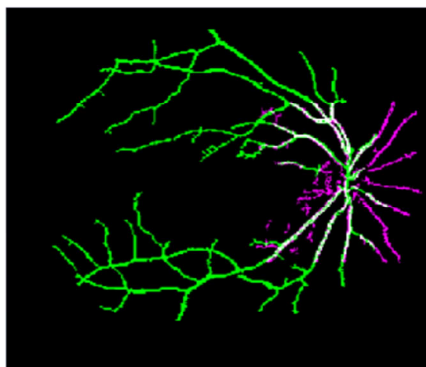
۱۵	۱۶	۱۷	۱۴	۱۳	۱۲	MaxDistance
۰/۰۲۶۸	۰/۰۲۷۷	۰/۰۲۷۸	۰/۰۲۷۲	۰/۰۲۹۲	۰/۰۲۷۵	MSE

MSE: Mean square error

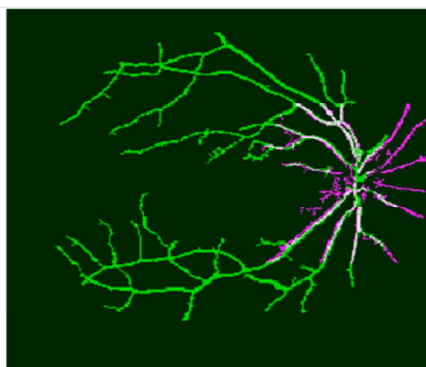
جدول ۵. مقدار خطا برای توابع متفاوت

Affine	Similarity	Affine	Similarity	Transform function
۱۰	۱۰	۱۵	۱۵	MaxDistance
۰/۰۲۷۰	۰/۰۲۸۲	۰/۰۲۸۱	۰/۰۲۷۷	MSE

MSE: Mean square error



(ب)



(الف)

شکل ۹. نتایج حاصل از رجیستر کردن

قسمت الف: با روش RANSAC (Random sample consensus) و SURF (Speeded-Up Robust Features) و قسمت ب: رجیستر کردن با روش همبستگی

گردید، در الگوریتم RANSAC از دو تابع تبدیل Affine و شباهت می توان استفاده نمود که خطای به دست آمده برای بعضی مقادیر MaxDistance در تابع Affine کمتر بود. با این حال چون تبدیل پروجکشن برای تصاویر OCT و فوندوس قابل قبول نیست، از تابع شباهت استفاده می شود.

بر اساس نتایج به دست آمده، زمان محاسبه برای رجیستر کردن با روش ذکر شده در مقایسه با روش همبستگی کمتر و بهینه تر است.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از زحمات خانم طاهره محمودی کارشناس ارشد مهندسی پزشکی جهت جمع آوری داده ها، تشکر و قدردانی به عمل می آید.

بحث

در مطالعه‌ی حاضر یک روش اتوماتیک برای رجیستر کردن تصاویر OCT و فوندوس مطرح شد. بر اساس یافته‌های به دست آمده، روش SURF برای استخراج نقاط ویژگی و بردارهای آن روشی سریع و با خطای کم خواهد بود. ویژگی بارز روش SURF، تغییرناپذیری نسبت به مقیاس و چرخش می باشد.

همچنین، روش RANSAC مناسبی برای حذف نقاط غیر تطابق است؛ با این تفاوت که چون روشی تکراری برای تخمین شاخص‌های مورد نیاز می باشد، از صحت صددرصدی برخوردار نیست، اما تکرار بیشتر الگوریتم که خود باعث افزایش زمان اجرا می شود، صحت بیشتری به دنبال دارد. همچنین، طبق نتایجی که ذکر

References

1. Marsh BC, Cantor LB, WuDunn D, Hoop J, Lipyanik J, Patella VM, et al. Optic nerve head (ONH) topographic analysis by stratus OCT in normal subjects: correlation to disc size, age, and ethnicity. *J Glaucoma* 2010; 19(5): 310-8.
2. Burgoyne CF. Image analysis of optic nerve disease. *Eye (Lond)* 2004; 18(11): 1207-13.
3. Kernt M, Kampik A. Imaging of the peripheral retina. *Oman J Ophthalmol* 2013; 6(Suppl 1): S32-S35.
4. Morishita K, Omori Sh, Yamagata Sh, Yokoyama T, Sano K, Ogushi A. Image registration method [Patent: US4644582 A]. 1987.
5. Goshtasby AA. Introduction. 2-D and 3-D Image Registration. Hoboken, NJ: John Wiley and Sons; 2004.
6. Thevenaz P, Ruttimann UE, Unser M. A pyramid approach to subpixel registration based on intensity. *IEEE Trans Image Process* 1998; 7(1): 27-41.
7. Mokhtarian F, Abbasi S. Shape similarity retrieval under affine transforms. *Pattern Recognition* 2002; 35(1): 31-41.
8. Brown LG. A survey of image registration techniques. *ACM Comput Surv* 1992; 24(4): 325-76.
9. Golabbakhsh M, Rabbani H. Vessel-based registration of fundus and optical coherence tomography projection images of retina using a quadratic registration model. *IET Image Processing* 2013; 7(8): 768-76.
10. Li Y, Gregori G, Knighton RW, Lujan BJ, Rosenfeld PJ. Registration of OCT fundus images with color fundus photographs based on blood vessel ridges. *Opt Express* 2011; 19(1): 7-16.
11. Niemeijer M, Garvin MK, Lee K, van Ginneken B, Abramoff MD, Sonka M. Registration of 3D spectral OCT volumes using 3D SIFT feature point matching. *Medical Imaging 2009: Image Processing* 2009; 7259: 1-8.
12. Mahmudi T, Kafieh R, Rabbani H, Mehri Dehnavi A, Akhlagi M. Comparison of macular OCTs in right and left eyes of normal people. *Medical Imaging 2014: Biomedical Applications in Molecular, Structural, and Functional Imaging* 2014; 9038: 1-6.

13. Doost-Hosseini A. Vessel centerlines extraction from Fundus Fluorescein Angiogram based on Hessian analysis of directional curvelet subbands. Proceedings of the IEEE International Conference on Acoustics, Speech and Signal Processing (ICASSP), 2013 May 26-31; Vancouver, Canada.
14. Pedersen JT. Study group SURF: Feature detection and description. Aarhus, Denmark: Department of Computer Science, Aarhus University;2011.
15. Zhang M, Li Z, Zhang CN, ai H. Adaptive feature extraction and image matching based on haar wavelet transform and SIFT. International Journal of Digital Content Technology and its Applications 2012; 6(7): 1-8.
16. Bay H, Ess A, Tuytelaars T, Van Gool L. Speeded-Up Robust Features (SURF). Comput Vis Image Underst 2008; 110(3): 346-59.
17. Pahlberg T, Hagman O, Thurley M. Recognition of boards using wood fingerprints based on a fusion of feature detection methods. Comput Electron Agr 2015; 111: 164-73.
18. Matas J, Chum O. Randomized RANSAC with sequential probability ratio test. 2005. p. 1727-32.
19. Fischler MA, Bolles RC. Random sample consensus: a paradigm for model fitting with applications to image analysis and automated cartography. Communications of the ACM 1981; 24(6): 381-95.
20. Ghergherehchi, M.; Seung Yeol Kim; Afarideh, H.; Yoon Sang Kim, "RANDOM sample consensus (RANSAC) algorithm for enhancing overlapped etched track counting," in Image Processing, IET , vol.9, no.2, pp.97-106, 2 2015.
21. Kang M, Gao J, Tang L. Nonlinear RANSAC Optimization for Parameter Estimation with Applications to Phagocyte Transmigration. Proc Int Conf Mach Learn Appl 2011; 1: 501-4.
22. Rabbani H, Allingham MJ, Mettu PS, Cousins SW, Farsiu S. Fully automatic segmentation of fluorescein leakage in subjects with diabetic macular edema. Invest Ophthalmol Vis Sci 2015; 56(3): 1482-92.

Registration of Optical Coherence Tomography (OCT) of Optic Nerve Head and Fundus Images Using Speeded-Up Robust Features (SURF) and Random Sample Consensus (RANSAC) Algorithms

Alieh Ahdi¹, Hossein Rabbani PhD², Alireza Vard PhD²

Original Article

Abstract

Background: Registration of images is the process of matching two images of an area or a scene with different conditions or imaging times or taken by different sets to achieve more accurate and detailed information. The purpose of this study was registration of three-dimensional optical coherence tomography (OCT) optic nerve head and fundus images.

Methods: Data used in this study were taken via 3D-OCT (Topcon model 1000) and contained images of three-dimensional OCT and two-dimensional colored fundus. This study was performed on 40 volunteers with normal eyes. In the first step, the projection of 3D-OCT images was gotten; then, the projection images of extracted vessels of two-dimensional fundus were achieved. Speeded-up robust features (SURF) algorithm was used to find the points and their feature vectors and then to match the feature vectors. In the next step, eliminated outliers points were deleted using Random sample consensus (RANSAC) algorithm. Finally, the scale and the angle for changing optic disc OCT images to be registered with fundus image were achieved.

Findings: Combining the projections of OCT and colored fundus images were well done using SURF and RANSAC algorithms. The best obtained parameters were match threshold of 100 in SURF algorithm and maximum distance of 15 in RANSAC algorithm with the mean square errors of 0.0272 and 0.0268, respectively. Due to lack of conversion of projection between the data of OCT and fundus images, for estimating the RANSAC algorithm, similarity function that just adjusted the values of transfer, rotation and scale, would lead to better results. The overall error for the data of 40 normal eyes selecting optimal values of parameters was 0.0038 ± 0.0268 .

Conclusion: Registration of projection of OCT and fundus images via combining the information of OCT and fundus images can provide valuable anatomical information from the eyes for ophthalmologists.

Keywords: Optic disk, Optical coherence tomography (OCT) images, Registration, Speeded-up robust features (SURF) algorithm, Random sample consensus (RANSAC) algorithm

Citation: Ahdi A, Rabbani H, Vard A. Registration of Optic Nerve Head Optical Coherence Tomography (OCT) and Fundus Images Using Speeded-Up Robust Features (SURF) and Random Sample Consensus (RANSAC) Algorithms. J Isfahan Med Sch 2016; 33(360): 2027-36

1- MSc Student, Department of Biomedical Engineering, School of Medicine AND Student Research Committee, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

2- Associate Professor, Department of Biomedical Engineering, School of Advanced Medical Technology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

Corresponding Author: Hossein Rabbani PhD, Email: h_rabbani@med.mui.ac.ir

بررسی مقایسه‌ای ویژگی‌های دو نوع صرع فراگیر و موضعی بر اساس تاریخچه‌ی خانوادگی صرع

دکتر محمدرضا نجفی^۱، شیما سعیدی^۲، شهرزاد نعمت‌اللهی^۳، دکتر رخساره معمار^۴

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: در اتیولوژی صرع، عوامل مختلفی مطرح است که یکی از این عوامل، ژنتیک می‌باشد. هدف از این مطالعه، بررسی مقایسه‌ای تأثیر تاریخچه‌ی خانوادگی مثبت در دو نوع صرع فراگیر و موضعی و مقایسه‌ی تفاوت‌های ویژگی‌های بیماران بر اساس تاریخچه‌ی خانوادگی بود.

روش‌ها: مطالعه‌ی حاضر، یک مطالعه‌ی توصیفی-تحلیلی گذشته‌نگر و مقطعی بود. اطلاعات بیماران (با تشخیص قطعی صرع توسط متخصص مغز و اعصاب) مراجعه کننده به کلینیک صرع بیمارستان‌های آیت‌الله کاشانی و الزهراء (س) اصفهان طی سال‌های ۹۲-۱۳۸۸ وارد مطالعه گردید. با استفاده از پرسش‌نامه، اطلاعات دموگرافیک بیماران و تاریخچه‌ی خانوادگی آن‌ها از نظر وجود بیماری صرع در خانواده، درجه‌ی یک و دو تعیین شد.

یافته‌ها: رابطه‌ی مثبتی بین صرع موضعی و تاریخچه‌ی خانوادگی مثبت صرع در بیماران مبتلا وجود داشت ($P = ۰/۰۴۶$)؛ چنین رابطه‌ی مثبتی در بیماران مبتلا به صرع فراگیر مشاهده نشد ($P = ۰/۰۹۸$). در بیماران مبتلا به هر دو نوع صرع، اکثریت معنی‌داری از افراد با الکتروانسفالوگرافی (Electroencephalography یا EEG) و CT scan (Computed tomography scan) غیرطبیعی مغز بدون سابقه‌ی خانوادگی بودند. بر حسب جنسیت، وضعیت تأهل و دارا بودن تحصیلات آکادمیک، اکثر افراد سابقه‌ی خانوادگی نداشتند ($P < ۰/۰۰۱$)؛ اما مدت تشنج بیماران مبتلا به صرع موضعی برای افرادی که سابقه‌ی خانوادگی درجه‌ی دو داشتند، بالاتر از سایرین بود.

نتیجه‌گیری: با توجه به وجود ارتباط معنی‌دار بین صرع موضعی و تاریخچه‌ی خانوادگی صرع، توصیه می‌شود مطالعات بیشتری هم در سطح مولکولی و هم در سطح اپیدمیولوژیک در حجم‌های وسیع‌تر انجام شود که نقش عوامل ژنتیکی در بروز این بیماری نمایان‌تر گردد.

واژگان کلیدی: صرع عمومی، صرع موضعی، تاریخچه خانوادگی

ارجاع: نجفی محمدرضا، سعیدی شیما، نعمت‌اللهی شهرزاد، رخساره معمار. بررسی مقایسه‌ای ویژگی‌های دو نوع صرع فراگیر و موضعی بر اساس

تاریخچه‌ی خانوادگی صرع. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۴؛ ۳۳ (۳۶۰): ۲۰۴۲-۲۰۳۶

مقدمه

صرع که شامل تشنج‌های مکرر در نتیجه‌ی اختلال عملکرد موقت مغز، ناشی از تخلیه‌ی الکتریکی غیرطبیعی و خود محدود شونده‌ی نرون‌های کورتکس مغز می‌باشد، طیف وسیعی از اختلالات را در بر می‌گیرد که در اثر تقابل تعداد فراوانی ژن و عوامل محیطی ایجاد می‌شود (۱). صرع به دو دسته‌ی کلی فراگیر و موضعی تقسیم می‌شود (۲).

عواملی همچون عفونت مغزی، ضربه به سر، مصرف الکل، سن و جنس در بروز صرع دخیل هستند. ژنتیک نیز به عنوان عامل خطری مهم در بروز صرع دخالت دارد (۳)؛ به نحوی که در برخی مطالعات دیده شده است که این بیماری، با میزان بیشتری در بستگان افراد مبتلا

نسبت به سایرین بروز می‌کند (۴). همچنین، برخی مطالعات آینده‌نگر و مورد-شاهدی، نشان دهنده‌ی آن است که در خواهر و برادر و فرزندان بیماران، ۲-۳ برابر خطر ابتلا به صرع وجود دارد (۳). مطالعاتی دیگر مبنی بر میزان بالای وقوع سندرم‌های صرع مشابه در دوقلوهای مونوزیگوت به طور قوی مطرح کننده‌ی تأثیر ژنتیک در ایجاد استعداد ابتلا به صرع می‌باشد (۵-۷).

اکنون با توجه به گستردگی مطالعات انجام شده، واضح است که بخش عمده‌ی صرع‌های فراگیر و موضعی، توارث پیچیده‌ای دارند که در ایجاد آن‌ها، ژن‌های مختلفی دخالت دارند (۲). تعیین ژن‌های مسؤول ایجاد سندرم‌های صرع، تأثیر مهمی در تحقیقات و اهداف

۱- استاد، مرکز تحقیقات علوم اعصاب و گروه داخلی اعصاب، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- دانشجوی پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی و کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۳- دانشجوی دکتری، گروه اپیدمیولوژی، دانشکده‌ی بهداشت عمومی و مرکز تحقیقات بهداشت عمومی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۴- استادیار، مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان و گروه فارماکولوژی، دانشکده‌ی علوم پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد نجف‌آباد، اصفهان، ایران

Email: meamar@pharm.mui.ac.ir

نویسنده‌ی مسؤول: دکتر رخساره معمار

برادر و یا فرزندان بیمار و بستگان درجه‌ی دو، خاله، دایی، عمه، عمو و فرزندان آن‌ها در نظر گرفته شدند.

داده‌های به دست آمده، پس از کدگذاری، تحت برنامه‌ی نرم‌افزاری SPSS (SPSS Inc., Chicago, IL) و با استفاده از آزمون‌های آماری χ^2 و همبستگی Spearman مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

از کلیه‌ی بیماران رضایت آگاهانه جهت ورود به مطالعه‌ی حاضر اخذ شد و پیش‌نویس مطالعه، در مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی اصفهان به تصویب رسید.

یافته‌ها

در مجموع، ۱۹۱۷ بیمار مبتلا به صرع مورد بررسی قرار گرفتند که از نظر توزیع جنسی ۱۰۴۲ نفر (۵۴/۴ درصد) را مردان و ۸۷۵ نفر (۴۵/۶ درصد) را زنان تشکیل دادند. میانگین سنی بیماران ۲۸/۹ (سال) بود.

داشتن تاریخچه‌ی خانوادگی صرع با ابتلا به صرع از نوع فراگیر ارتباطی نداشت ($P = ۰/۰۹۸$)؛ در حالی که این ارتباط بین تاریخچه‌ی خانوادگی و ابتلا به صرع موضعی به صورت معنی‌داری وجود داشت ($P = ۰/۰۴۶$).

همبستگی بین تاریخچه‌ی خانوادگی هر دو نوع صرع به طور جزئی‌تر در جدول ۱ آمده است. بر اساس ضریب همبستگی Spearman در هر دو نوع صرع فراگیر و موضعی، بین ویژگی‌های بیماران (الکتروانسفالوگرافی غیرطبیعی، CT scan غیرطبیعی مغز، جنس و وضعیت تأهل) با تاریخچه‌ی خانوادگی صرع رابطه‌ی معنی‌داری دیده شد (جدول ۱).

جهت بررسی دقیق‌تر اختلاف بین تناسب بیماران با سابقه و بدون سابقه‌ی خانوادگی، نتایج آزمون χ^2 در جدول ۲ به طور خلاصه آمده است. بین هر دو نوع صرع فراگیر و موضعی بر اساس ویژگی‌های بیماران (الکتروانسفالوگرافی غیرطبیعی، CT scan غیرطبیعی مغز، جنس، مدت تشنج، وضعیت تأهل و سطح تحصیلات) و وجود سابقه‌ی خانوادگی ارتباط معنی‌داری وجود داشت. در زیرگروهی از بیماران که مبتلا به صرع فراگیر بودند، تعداد بیمارانی که هیچ‌گونه سابقه‌ی خانوادگی نداشتند، به طور معنی‌داری نتایج بیشتری از الکتروانسفالوگرافی یا CT scan غیرطبیعی مغز و میانگین مدت تشنج بالاتر از همتایان خود با هر گونه سابقه‌ی خانوادگی را گزارش نمودند. اکثریت معنی‌داری از بیماران با صرع عمومی، چه بر حسب جنسیت و چه بر حسب وضعیت تأهل، بدون سابقه‌ی خانوادگی بودند؛ همچنین، اختلاف معنی‌داری در بحث سطح تحصیلات به دست آمد؛ به نحوی که اکثریت معنی‌داری از بیماران با صرع فراگیر و تحصیلات آکادمیک، بدون سابقه‌ی خانوادگی بودند (جدول ۲).

بالینی دارد. کشف ژن‌های جدید و تأثیر آن‌ها، دانش ما را در مورد عوامل زمینه‌ای مستعدکننده‌ی ایجاد تشنج ارتقا می‌بخشد. همچنین، به صورت بالقوه منجر به کشف درمان‌های جدید می‌شود (۸).

به طور مثال، درمان صرع لوب تمپورال که نوعی صرع موضعی محسوب می‌شود، در آینده با احتمال زیادی مشمول ژن درمانی خواهد بود (۹). از سوی دیگر، آزمایش‌های ژنتیکی برای تأیید تشخیص انواع صرع مفید است (۸) و تا کنون کاربرد کلینیک برخی از آن‌ها نیز مورد استفاده قرار گرفته است.

بنا بر آن چه گفته شد و نقش واضح ژنتیک در ایجاد و بروز صرع، مطالعه‌ی حاضر با هدف بررسی مقایسه‌ای میزان تأثیر تاریخچه‌ی خانوادگی مثبت در دو نوع صرع فراگیر و موضعی، و مقایسه‌ی ویژگی‌های هر یک انجام شد.

روش‌ها

مطالعه‌ی حاضر، یک مطالعه‌ی توصیفی - تحلیلی گذشته‌نگر و مقطعی بود که بر روی بیماران مراجعه‌کننده به کلینیک صرع بیمارستان‌های آیت‌اله کاشانی و الزهرا (س) اصفهان طی سال‌های ۹۲-۱۳۸۸ انجام شد. بیماران طبق تعاریف و طبقه‌بندی‌های صرع، بر اساس معیار ILAE (International League Against Epilepsy) وارد مطالعه شدند (۱۰). با توجه به شواهد بالینی و انجام معاینه توسط یک نفر کلینیکال نورولوژیست باتجربه و همچنین، انجام الکتروانسفالوگرافی (EEG) یا Computed tomography scan (Electroencephalography) و (CT scan) مغز، تشخیص قطعی صرع توسط نورولوژیست داده شد.

پس از آن، بیماران به دو دسته‌ی کلی مبتلایان به صرع فراگیر و موضعی تقسیم شدند. با توجه به این که صرع Grand mal و Myoclonic جوانان، شایع‌ترین انواع صرع فراگیر هستند، مبتلایان به این دو نوع صرع، به عنوان مبتلایان به صرع فراگیر مورد مطالعه قرار گرفتند و بیماران مبتلا به صرع موضعی ساده و صرع موضعی پیچیده نیز در یک گروه واحد تحت عنوان صرع موضعی تحت بررسی قرار گرفتند.

اطلاعاتی از قبیل سن، جنس، میزان تحصیلات، وضعیت تأهل، طول مدت ابتلا به صرع، داروهای مورد مصرف و تاریخچه‌ی خانوادگی کامل بیماران از نظر وجود یا عدم وجود صرع در خانواده‌ی درجه‌ی یک و دوی بیماران با تکمیل پرسش‌نامه در اولین مراجعه توسط پزشک مراکز پیش‌گفته، جمع‌آوری شد.

بیماران بر اساس تاریخچه‌ی خانوادگی صرع به دو گروه افراد دارای تاریخچه‌ی خانوادگی مثبت و منفی تقسیم شدند. سپس، بیماران دارای تاریخچه‌ی خانوادگی مثبت نیز در دو گروه بیماران دارای تاریخچه‌ی خانوادگی صرع در بستگان درجه‌ی یک و بستگان درجه‌ی دو جای گرفتند. بستگان درجه‌ی یک پدر، مادر، خواهر،

جدول ۱. بررسی همبستگی سابقه‌ی خانوادگی با متغیرهای بالینی در بیماران مراجعه کننده به کلینیک صرع بر حسب انواع مختلف صرع

نوع صرع	سابقه‌ی خانوادگی	ضریب همبستگی*	مقدار P
عمومی	EEG غیرطبیعی	۰/۰۲۸	< ۰/۰۰۱
	CT scan غیرطبیعی	۰	< ۰/۰۰۱
	جنس	-۰/۰۴۰	< ۰/۰۰۱
موضعی	وضعیت تأهل	۰	< ۰/۰۰۱
	EEG غیرطبیعی	-۰/۰۱۴	< ۰/۰۰۱
	CT scan غیرطبیعی	-۰/۰۰۲	< ۰/۰۰۱
	جنس	۰/۰۵۳	< ۰/۰۰۱
	وضعیت تأهل	۰/۰۰۴	< ۰/۰۰۱

*Spearman Correlation Coefficient; CT scan: Computed tomography scan; EEG: Electroencephalogram

جدول ۲. بررسی ارتباط سابقه‌ی خانوادگی با متغیرهای بالینی و دموگرافیک در بیماران بر حسب نوع صرع

نوع صرع (تعداد)	متغیر (زیر گروه)	سابقه‌ی خانوادگی		
		ندارد	درجه‌ی یک	درجه‌ی دو
فراگیر (۱۵۶۲)	EEG غیرطبیعی	۴۰	۱۲	۸
	CT scan غیرطبیعی	۳۸	۷	۷
	مدت تشنج (میانگین)	۷/۳۷	۷/۳۴	۷/۲۱
	مرد	۵۷۵	۱۸۱	۹۸
	زن	۴۴۹	۱۶۹	۹۰
	وضعیت تأهل	۱۴۴	۳۴	۲۲
	متأهل	۱۰۹	۲۹	۱۶
	مجرد	۴۵	۱۸	۶
	سطح تحصیلات	۵۶	۱۱	۵
	بی سواد ابتدایی	۴۴	۱۴	۱۰
موضعی (۱۴۸)	دبیرستان	۷۸	۲۱	۱۳
	دانشگاهی	۳۰	۹	۴
	EEG غیرطبیعی	۲۱۳	۶۸	۵۹
	CT scan غیرطبیعی	۱۵	۲	۳
	مدت تشنج (میانگین)	۶/۴۹	۸/۵۹	۱۲/۲۳
	جنس	۶۰	۱۳	۱۰
	مرد	۴۹	۸	۷
	زن	۵۹	۱۱	۱۰
	وضعیت تأهل	۵۰	۱۱	۷
	متأهل	۲۱	۳	۳
مجرد	۱۷	۲	۱	
سطح تحصیلات	۱۹	۶	۳	
بی سواد ابتدایی	۳۵	۷	۸	
دبیرستان	۱۷	۴	۲	
دانشگاهی				

CT scan: Computed tomography scan; EEG: Electroencephalogram

بدون سابقه‌ی خانوادگی بودند؛ همچنین، بر حسب جنسیت، وضعیت تأهل و دارا بودن تحصیلات آکادمیک به صورت معنی داری اکثر افراد سابقه‌ی خانوادگی نداشتند؛ اما مدت تشنج بیماران با صرع موضعی

در زیر گروه بیماران مبتلا به صرع موضعی نیز نتایج کم و بیش مشابهی به دست آمد. به عبارت دیگر، در این بیماران نیز اکثریت معنی داری از افراد با الکتروانسفالوگرافی و CT scan غیرطبیعی مغز

شد، ارتباط ژنتیک و تاریخچه‌ی خانوادگی مثبت صرع با نوعی صرع موضعی نشان داده شده است (۲۵). برخی مطالعات همچون مطالعه‌ی ریاسی و همکاران بر روی بیماران مبتلا به صرع در بیرجند، بر خلاف مطالعه‌ی حاضر، ارتباط معنی‌داری بین تاریخچه‌ی خانوادگی صرع و انواع صرع نشان نداده است (۱۳).

از طرفی، برخی مطالعات بر خلاف یافته‌های مطالعه‌ی حاضر مبنی بر عدم وجود ارتباط معنی‌دار بین صرع فراگیر و تاریخچه‌ی خانوادگی، نشان داده است که سابقه‌ی خانوادگی در مبتلایان به صرع فراگیر با ابتلا به بیماری ارتباط معنی‌دار دارد (۲۶). یکی از دلایل متفاوت بودن نتایج در خصوص ارتباط تاریخچه‌ی خانوادگی مثبت با ابتلا به صرع را می‌توان به تعاریف متفاوت برای عامل تاریخچه‌ی خانوادگی نسبت داد؛ در حالی که برخی مطالعات، فقط افراد درجه‌ی یک خانواده را مورد بررسی قرار می‌دهند، مطالعات دیگر همچون مطالعه‌ی حاضر تعاریف وسیع‌تری برای این منظور استفاده می‌کنند (۲۸-۲۷). وارد کردن طیف وسیعی از بیماران با سنین مختلف در حالی که یکی از نقاط قوت مطالعه‌ی حاضر به شمار می‌آید، می‌تواند اثر سوء در طبقه‌بندی صرع دوران کودکی و افتراق آن از تشنج‌های ناشی از تب داشته باشد؛ چرا که برخی مطالعات نشان داده است که تا ۲۰ درصد موارد صرع عمومی، در دوران کودکی به غلط به عنوان تشنج‌های ناشی از تب طبقه‌بندی می‌شوند و این در حالی است که یک سوم این کودکان، سابقه‌ی خانوادگی صرع را نیز دارند (۲۹).

بررسی‌های دقیق در مطالعه‌ی حاضر نشان داد که عامل تاریخچه‌ی خانوادگی، با متغیرهای سطح تحصیلات و وضعیت تأهل در هر دو دسته‌ی بیماران با صرع فراگیر و موضعی ارتباط معنی‌داری دارد. این مسأله، مورد توافق مطالعات پیشین است که نشان می‌دهد سطح اجتماعی پایین (شامل سطح تحصیلات کم، نداشتن شغل مناسب و درآمد پایین)، با وجود سابقه‌ی بیماری صرع در والدین بیماران مبتلا به صرع در ارتباط است (۳۱-۳۰). نتایج واکاوی داده‌ها در زیرگروه‌ها همچنین نشان داد که عامل تاریخچه‌ی خانوادگی در بیماران با صرع فراگیر و موضعی، با الکتروانسفالوگرافی غیر طبیعی در ارتباط است. نتیجه‌ی مطالعه‌ی اعتمادی فر و همکاران نیز نشان داد که در بستگان بیماران با صرع عمومی، نتایج الکتروانسفالوگرافی غیرطبیعی بیشتری دیده می‌شود (۲۶).

در نهایت، یافته‌های این مطالعه مبنی بر وجود ارتباط معنی‌دار بین تاریخچه‌ی خانوادگی صرع با ویژگی‌های دو نوع صرع فراگیر و موضعی نشان دهنده‌ی نقش به‌سزای تاریخچه‌ی خانوادگی در این بیماری است. از این رو، بررسی وجود تاریخچه‌ی خانوادگی مثبت از نظر ابتلا به صرع در بیماران مبتلا اهمیت ویژه‌ای در مدیریت این بیماران دارد.

برای افرادی که سابقه‌ی خانوادگی درجه‌ی دوم داشتند، به طور معنی‌داری بالاتر از سایرین بود (جدول ۲).

بحث

بیماری صرع از جمله بیماری‌هایی است که مطالعات گسترده‌ای پیرامون اپیدمیولوژی، تشخیص و درمان آن در سراسر جهان صورت گرفته و یا در حال انجام است. در مطالعه‌ی حاضر که جهت بررسی ارتباط بیماری صرع و تاریخچه‌ی خانوادگی این بیماری بر روی بیماران مبتلا به صرع مراجعه کننده به کلینیک صرع بیمارستان‌های آیت‌اله کاشانی و الزهراء (س) اصفهان در فاصله‌ی سال‌های ۹۲-۱۳۸۸ انجام شد؛ نتایج نشان داد که رابطه‌ی معنی‌داری بین صرع موضعی و تاریخچه‌ی خانوادگی مثبت صرع در بیماران مبتلا وجود دارد؛ اما چنین رابطه‌ی مثبتی در بیماران با صرع فراگیر مشاهده نشد. با توجه به مطالعات فراوانی که در زمینه‌ی صرع انجام شده است، ژنتیک به عنوان عامل خطری مهم در بروز صرع شناسایی شده و بر اساس آن، مطالعات گسترده‌ای در زمینه‌ی تاریخچه‌ی خانوادگی صرع جهت تأیید نقش این عامل انجام گرفته است (۳-۲).

مطالعه‌ی Ottoman و همکاران نشان داد که خطر بروز تشنج در افرادی که والدین آن‌ها سابقه‌ی تشنج داشته‌اند، بالاتر است (۸). همچنین، در مطالعه‌ای که در اتیوپی انجام شد، دریافتند که ۲۲ درصد افراد مبتلا به صرع تاریخچه‌ی خانوادگی مثبت صرع داشته‌اند (۱۱) و در مطالعه‌ی دیگر در ترکیه حدود ۳۷ درصد افراد شرکت کننده در مطالعه، حداقل یک مورد ابتلا به صرع در بستگان نزدیک خود داشته‌اند (۱۲). برخی مطالعات دیگر نیز نشان می‌دهند که تاریخچه‌ی خانوادگی مثبت، خطر ابتلا به صرع را ۲-۳ برابر افزایش می‌دهد. این افزایش خطر نسبی، تنها برای بیمارانی است که به دلایل دیگر مانند سابقه‌ی تروما یا تولد سخت مبتلا به صرع نشده باشند (۱۳).

پیش‌زمینه‌ی ژنتیک از میان انواع صرع اهمیت به‌سزایی در بروز صرع موضعی ایفا می‌کند (۷). پیش از این، تصور می‌شد که صرع لوب تمپورال که نوعی صرع موضعی است، تنها ناشی از مشکلات ساختاری لوب تمپورال می‌باشد (۱۵-۱۴). در حالی که طی دو دهه‌ی گذشته، شواهد رو به رشدی از تأثیر عوامل ژنتیک (۱۶) و خانوادگی شرح داده شده‌اند (۲۰-۱۷) و این نتایج، مطابق با یافته‌های مطالعه‌ی حاضر می‌باشد. در تأیید یافته‌های این مطالعه، مطالعات مختلف در برخی کشورها نشان می‌دهند که سابقه‌ی خانوادگی، یکی از عوامل خطر ابتلا به صرع موضعی است (۲۳-۲۱).

در مطالعه‌ی Brodtkorb و همکاران، بر نقش ژنتیک و داشتن تاریخچه‌ی خانوادگی صرع در صرع موضعی تأکید شده است (۲۴). همچنین، در مطالعه‌ای که بر روی تعدادی خانواده‌ی اروپایی انجام

دلیل مرکزیت شهرستان اصفهان، تعمیم نتایج به جمعیت‌های دیگر و کل کشور، باید با احتیاط و با در نظر گرفتن خصوصیات جمعیت مورد نظر انجام شود. با توجه به این مسأله، مطالعات گسترده تری لازم است که این ارتباط را در جمعیت سطح کشور بسنجد.

تشکر و قدردانی

مطالعه‌ی حاضر برگرفته از طرح تحقیقاتی با همین عنوان می‌باشد که در مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی اصفهان به شماره‌ی طرح ۲۹۳۲۷۳ به تصویب رسید و پس از تأیید معاونت پژوهشی به صورت پایان‌نامه اجرا شد. از کلیه‌ی عوامل دست اندر کار و بیمارانی که در این طرح همکاری داشتند، تشکر و قدردانی می‌گردد.

باید به این نکته توجه نمود که نقش ژنتیک در اتیولوژی صرع، هنوز جای مناقشه بسیار دارد. به دلیل ذات اپیزودیک و اتیولوژی چندگانه‌ی صرع، علت‌های محیطی و ژنتیک در تعامل با هم برای رخداد بیماری باید بررسی شوند (۲۳). از سوی دیگر، هتروژنیسیته موجود در شدت تشنج‌ها مقایسه‌ی نتایج مطالعات بر روی خانواده‌ها را دشوار می‌سازد.

حجم نمونه‌ی بالای مطالعه‌ی حاضر، به عنوان یکی از نقاط قوت می‌تواند اطمینان ما را در تخمین‌های ارایه شده بیشتر نماید. همچنین، مطالعات پیشین نشان داده است که حساسیت دریافت اطلاعات تاریخچه‌ی خانوادگی بیماران مبتلا به صرع، بسیار بالاتر از سایر بیماران مبتلا به تشنج می‌باشد (۱۱)؛ این نیز از نقاط قوت این مطالعه است. به

References

- Pomerantz A, Cole BH, Watts BV, Weeks WB. Improving efficiency and access to mental health care: combining integrated care and advanced access. *Gen Hosp Psychiatry* 2008; 30(6): 546-51.
- Michelucci R, Pasini E, Riguzzi P, Volpi L, Dazzo E, Nobile C. Genetics of epilepsy and relevance to current practice. *Curr Neurol Neurosci Rep* 2012; 12(4): 445-55.
- Kotagal P, Luders HO. *The epilepsies: Etiologies and prevention*. San Diego, CA: Academic Press; 1998. p. 2-7.
- Kaneko S, Wada K. Molecular genetic studies of epilepsies. *No To Shinkei* 1998; 50(12): 1071-7. [In Japanese].
- Manolio TA, Collins FS, Cox NJ, Goldstein DB, Hindorff LA, Hunter DJ, et al. Finding the missing heritability of complex diseases. *Nature* 2009; 461(7265): 747-53.
- Helbig I, Lowenstein DH. Genetics of the epilepsies: where are we and where are we going? *Curr Opin Neurol* 2013; 26(2): 179-85.
- Berkovic SF, Howell RA, Hay DA, Hopper JL. Epilepsies in twins: genetics of the major epilepsy syndromes. *Ann Neurol* 1998; 43(4): 435-45.
- Ottman R, Hirose S, Jain S, Lerche H, Lopes-Cendes I, Noebels JL, et al. Genetic testing in the epilepsies--report of the ILAE Genetics Commission. *Epilepsia* 2010; 51(4): 655-70.
- Hwang SK, Hirose S. Genetics of temporal lobe epilepsy. *Brain Dev* 2012; 34(8): 609-16.
- Engel J, Jr. Report of the ILAE classification core group. *Epilepsia* 2006; 47(9): 1558-68.
- Ottman R, Hauser WA, Susser M. Validity of family history data on seizure disorders. *Epilepsia* 1993; 34(3): 469-75.
- Onal AE, Tumerdem Y, Ozturk MK, Gurses C, Baykan B, Gokyigit A, et al. Epilepsy prevalence in a rural area in Istanbul. *Seizure* 2002; 11(6): 397-401.
- Riyasi HR, Hassanzadeh Taheri MM, Sharifzadeh GhR, Hoseinzadeh Chahkandook F. An epidemiological study of epilepsy and some clinical aspects of hospitalized epileptic patients in Birjand Valli-e-Asr Hospital (2004-2006). *J Birjand Univ Med Sci* 2009; 15(4): 62-8. [In Persian].
- Harvey AS, Berkovic SF, Wrennall JA, Hopkins JJ. Temporal lobe epilepsy in childhood: clinical, EEG, and neuroimaging findings and syndrome classification in a cohort with new-onset seizures. *Neurology* 1997; 49(4): 960-8.
- Ray A, Kotagal P. Temporal lobe epilepsy in children: overview of clinical semiology. *Epileptic Disord* 2005; 7(4): 299-307.
- Ottman R. Genetics of the partial epilepsies: a review. *Epilepsia* 1989; 30(1): 107-11.
- Berkovic SF, McIntosh A, Howell RA, Mitchell A, Sheffield LJ, Hopper JL. Familial temporal lobe epilepsy: a common disorder identified in twins. *Ann Neurol* 1996; 40(2): 227-35.
- Vadlamudi L, Scheffer IE, Berkovic SF. Genetics of temporal lobe epilepsy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2003; 74(10): 1359-61.
- Gambardella A, Labate A, Giallonardo A, Aguglia U. Familial mesial temporal lobe epilepsies: clinical and genetic features. *Epilepsia* 2009; 50(Suppl 5): 55-7.
- Berkovic SF, Mulley JC, Scheffer IE, Petrou S. Human epilepsies: interaction of genetic and acquired factors. *Trends Neurosci* 2006; 29(7): 391-7.
- Tan NC, Mulley JC, Scheffer IE. Genetic dissection of the common epilepsies. *Curr Opin Neurol* 2006; 19(2): 157-63.
- Bhalla D, Chea K, Hun C, Vannareth M, Huc P, Chan S, et al. Population-based study of epilepsy in Cambodia associated factors, measures of impact, stigma, quality of life, knowledge-attitude-practice, and treatment gap. *PLoS One* 2012; 7(10): e46296.
- Annegers JF, Rocca WA, Hauser WA. Causes of epilepsy: contributions of the Rochester epidemiology project. *Mayo Clin Proc* 1996; 71(6): 570-5.
- Brodtkorb E, Gu W, Nakken KO, Fischer C, Steinlein OK. Familial temporal lobe epilepsy with aphasic seizures and linkage to chromosome 10q22-q24. *Epilepsia* 2002; 43(3): 228-35.

25. Michelucci R, Poza JJ, Sofia V, de Feo MR, Binelli S, Bisulli F, et al. Autosomal dominant lateral temporal epilepsy: clinical spectrum, new epitempin mutations, and genetic heterogeneity in seven European families. *Epilepsia* 2003; 44(10): 1289-97.
26. Etemadifar M, Mirabdolbaghi P. Demographic and clinical characteristics of myoclonic epileptic juvenile patients in Esfahan. *Iran South Med J* 2005; 8(2): 160-4. [In Persian].
27. Hiyoshi T, Yagi K. Epilepsy in the elderly. *Epilepsia* 2000; 41(Suppl 9): 31-5.
28. Ottman R, Annegers JF, Risch N, Hauser WA, Susser M. Relations of genetic and environmental factors in the etiology of epilepsy. *Ann Neurol* 1996; 39(4): 442-9.
29. Oller-Daurella L, Oller LFV. Epilepsy with generalized tonic-clonic seizures in childhood. Does a childhood 'grand mal' syndrome exist? In: Roger J, Bureau M, Dravet C, Dreifuss FE, Perret A, Wolf P, editors. *Epileptic syndromes in infancy, childhood and adolescence*. 2nd ed. London, UK: John Libbey; 1992. p. 161-71.
30. Thurman DJ, Beghi E, Begley C, Berg AT, Buchhalter JR, Ding D, et al. ILAE Epidemiology Commission Report: Standards for epidemiologic studies and surveillance of epilepsy. *Epilepsia* 2011; 52(Suppl 7): 2-26.
31. Hesdorffer DC, Tian H, Anand K, Hauser WA, Ludvigsson P, Olafsson E, et al. Socioeconomic status is a risk factor for epilepsy in Icelandic adults but not in children. *Epilepsia* 2005; 46(8): 1297-303.

Different Characteristics between the Generalized and Partial Epilepsy Based on the Family History of Epilepsy

Mohammad Reza Najafi MD¹, Shima Saeidi², Shahrzad Nematollahi³, Rokhsareh Meamar MD, PhD⁴

Original Article

Abstract

Background: In etiology of epilepsy, different factors have role and one of them is genetics. This study aimed to investigate the differences between generalized and partial epilepsy based on the family history.

Methods: The patients with epilepsy admitted in the epilepsy clinics of Kashani and Alzahra Hospitals, Isfahan, Iran, during the years 2009-2013, enrolled in this cross-sectional retrospective study. Demographic data of these patients were gathered with a questionnaire form. First and secondary degree family history of patients was determined. The epilepsy was diagnosed by an experienced neurologist using history and physical exam and was confirmed with brain computed tomography (CT) scan and electroencephalogram (EEG).

Findings: There was a positive correlation between the partial epilepsy and positive family history of epilepsy ($P = 0.046$) but not in generalized epilepsy ($P = 0.098$). There was significant correlation between abnormal brain CT scan, abnormal EEG, sex, marriage and education with negative family history of epilepsy in both generalized and partial epilepsy; although, the duration of seizure in patients with partial epilepsy who had secondary degree positive family history was significantly more than the others ($P < 0.001$).

Conclusion: According to positive correlation between partial epilepsy and family history of epilepsy, more molecular and epidemiological researches would be recommended to be arranged for determination of the role of genetic factors in epilepsy.

Keywords: Epilepsy, Generalized, Epilepsies, Partial, Family history

Citation: Najafi MR, Saeidi Sh, Nematollahi Sh, Meamar R. **Different Characteristics between the Generalized and Partial Epilepsy Based on the Family History of Epilepsy.** J Isfahan Med Sch 2016; 33(360): 2036-42

1- Professor, Department of Neurology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

2- Student of Medicine, School of Medicine AND Student Research Committee, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

3- PhD Candidate, Department of Epidemiology, School of Public Health AND Institute of Public Health Research, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

4- Assistant Professor, Isfahan Endocrine and Metabolism Research Center, Isfahan University of Medical Sciences AND Department of Pharmacology, School of Medical Sciences, Najafabad Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran

Corresponding Author: Rokhsareh Meamar MD, PhD, Email: meamar@pharm.mui.ac.ir

ردیابی ژن‌های *oprL*، *gyrB*، *ETA* و *16SrDNA* در سویه‌های *Pseudomonas aeruginosa* جدا شده از نمونه‌های بالینی مراکز درمانی کرج

مهسا عطایی آشتیانی^۱، دکتر تقی زهرایی صالحی^۲

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: *Pseudomonas aeruginosa* یکی از عوامل مهم عفونت‌های بیمارستانی به ویژه در بیماران مبتلا به نقص سیستم ایمنی و کودکان است. ژن‌های *oprL*، *gyrB*، *ETA* و *16SrDNA* جهت تدوین برنامه‌ی پیش‌گیری و مبارزه، ضروری می‌باشند و فراوانی بیشتری نسبت به سایر ژن‌ها دارند. از این رو، مطالعه‌ی حاضر با هدف بررسی این ژن‌ها با استفاده روش Multiplex-PCR (Multiplex-polymerase chain reaction) انجام شد.

روش‌ها: در این مطالعه‌ی مقطعی- توصیفی، ۵۵ سویه‌ی *Pseudomonas aeruginosa* از نمونه‌های بالینی متفاوت جمع‌آوری و بعد از کشت بر روی محیط *MacConkey agar* و *Cetrimide agar* و انجام آزمایش‌های بیوشیمیایی تشخیص داده شد. DNA ژنومیک باکتری استخراج شد و توالی‌های هدف مورد نظر با ژن‌های *oprL*، *gyrB*، *ETA* و *16SrDNA* تکثیر یافت.

یافته‌ها: آزمون مولکولی نشان داد که میزان فراوانی ژن‌های *oprL*، *ETA*، *gyrB* و *16SrDNA* به ترتیب ۹۶/۳۶، ۹۴/۵۰، ۱۰۰ و ۱۰۰ درصد بود.

نتیجه‌گیری: ژن‌های *oprL* و *ETA* از حساسیت بیشتر و ویژگی کمتری برای شناسایی *Pseudomonas aeruginosa* برخوردار است؛ در صورتی که تشخیص این باکتری با استفاده از ژن‌های *gyrB* و *16SrDNA* دارای ویژگی بیشتری است و استفاده‌ی هم‌زمان از ژن‌های *oprL*، *gyrB*، *ETA* و *16SrDNA* حساسیت کافی را برای شناسایی *Pseudomonas aeruginosa* از نمونه‌های بالینی فراهم می‌کند.

واژگان کلیدی: *Pseudomonas aeruginosa*، *16SrDNA*، ژن

ارجاع: عطایی آشتیانی مهسا، زهرایی صالحی تقی. ردیابی ژن‌های *oprL*، *gyrB*، *ETA* و *16SrDNA* در سویه‌های *Pseudomonas aeruginosa*

جدا شده از نمونه‌های بالینی مراکز درمانی کرج. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۴؛ ۳۳ (۳۶۰): ۲۰۴۳-۲۰۴۸

Pseudomonas aeruginosa محصولات سلولی زیادی تولید می‌کند که به عنوان Adhesions، حفاظت از باکتری در مقابل فاگوسیتوز، تغییر سیستم ایمنی و یا آسیب به بافت‌های میزبان، منجر به ایجاد بیماری می‌گردند (۳). حدود ۹۵ درصد سویه‌های *Pseudomonas aeruginosa* توانایی تولید آگزوتوکسین A را دارند. مکانیسم این ماده مانند توکسین دیفتری، موجب توقف سنتز پروتئین از طریق غیر فعال نمودن عامل طویل کننده‌ی EF-2 یا (Elongation factor) می‌باشد (۴-۵).

oprL از لیپوپروتئین‌های تشکیل دهنده‌ی پمپ‌های تراوش *Pseudomonas aeruginosa* (Efflux pump) در غشای خارجی *Pseudomonas aeruginosa* به شمار می‌روند که در مقاومت آنتی‌بیوتیکی این باکتری نقش دارند.

مقدمه

Pseudomonas aeruginosa به عنوان یک عامل فرصت طلب و مقاوم به اکثر آنتی‌بیوتیک‌ها، در عفونت‌های بیمارستانی نقش مهمی ایفا می‌نماید (۱). این باکتری، در بخش‌های مختلف بیمارستانی، مخازن مرطوب، وان، دستشویی، زمین‌شوی‌ها (تی)، وسایل تنفسی و دیالیز و حتی در محلول‌های ضد عفونی کننده، می‌تواند کلونیزه شود (۱). در غشای خارجی *Pseudomonas aeruginosa* انواع مختلفی از پروتئین‌ها وجود دارند. بیشترین پروتئین پورینی موجود در غشای خارجی این باکتری، پروتئین F است که کمبود این پروتئین موجب از بین رفتن خاصیت نفوذ پذیری غشای خارجی این باکتری نسبت به یک نوع سفالوسپورین می‌شود (۲).

۱- کارشناس ارشد، گروه میکروبیولوژی، دانشکده‌ی علوم پایه، واحد ساوه، دانشگاه آزاد اسلامی، ساوه، ایران

۲- استاد، گروه میکروبیولوژی، دانشکده‌ی دام‌پزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: دکتر تقی زهرایی صالحی

مانند ادرار، خون، زخم و ترشحات ریه از آزمایشگاه‌های کرج و مراکز درمانی شهر کرج در بهار و تابستان سال ۱۳۹۳ جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل شد. این نمونه‌ها، بعد از کشت بر روی محیط‌های *MacConkey agar* و *Cetrimide agar* در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه گردید و در نهایت، ۵۵ سویه‌ی باکتری *Pseudomonas aeruginosa* جداسازی شد. بعد از شناسایی و تأیید حضور باکتری *Pseudomonas aeruginosa*، آزمون‌های بیوشیمیایی، *TSI agar* (Triple sugar iron agar)، *Simmons citrate agar* و اکسیداز جهت تأیید نهایی به انجام رسید (۱۳-۱۵).

برای استخراج DNA از کیت باکتری‌های گرم منفی سیناژن (Cinna Pure DNA KIT-PR881613) استفاده گردید. برنامه‌ی آزمون Multiplex-PCR شامل مرحله‌ی دناتوراسیون اولیه در دمای ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه، مرحله‌ی دناتوراسیون در دمای ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، مرحله‌ی اتصال در دمای ۵۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۷۰ ثانیه، مرحله‌ی بسط در دمای ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه (تعداد ۳۵ چرخه)، مرحله‌ی بسط نهایی در دمای ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه بود. پرایمرهای مورد استفاده در این آزمون از اطلاعات بانک ژنی (Genbank data base) استخراج و بخشی از ژن انتخاب و با نرم‌افزارهای *DNASIS* و *Oligo*، پرایمر بالادست (Forward primer) و پرایمر پایین‌دست (Reverse primer) تأیید شد و سنتز انجام گردید. توالی نوکلئوتیدی پرایمرها در جدول ۱ آمده است (۱۱).

مخلوط‌های استفاده شده جهت انجام واکنش به این شرح بود: آب مقطر ۱۰/۹۵ میکرولیتر، *PCR buffer* IX به میزان ۲ میکرولیتر، $MgCl_2$ به میزان ۰/۸ میکرولیتر، *dNTP mix* (Deoxynucleotide triphosphate) (۵ Mm) به میزان

مقاومت ذاتی *Pseudomonas aeruginosa*، نتیجه‌ی حضور پروتئین *oprL* است که در سیستم‌های انتقالی و قابلیت نفوذ پذیری سلول باکتری نقش دارد. پروتئین‌های غشای خارجی *Pseudomonas aeruginosa* نقش مهمی در واکنش باکتری با محیط دارند و برای شناسایی گونه‌ی *Pseudomonas aeruginosa* به کار می‌روند (۹-۶، ۲).

ژن *16SrDNA* دارای تمام ویژگی‌های مربوط به مطالعات فیلوژنی موجودات است و سطوح مناسبی از توالی حفاظت شده را دارا می‌باشد. این ژن، دارای بزرگ‌ترین پایگاه اطلاعاتی برای مقایسه‌ی ایزوله‌های جدید است (۱۱-۱۰). فلوروکیتولون‌ها به عنوان داروی انتخابی در درمان عفونت‌های ناشی از *Pseudomonas aeruginosa* استفاده می‌شوند. ایجاد مقاومت نسبت به این دسته از آنتی‌بیوتیک‌ها، مهار فعالیت DNA گیراز (توپوایزومراز II) است که با ژن‌های *gyrA* و *gyrB* کد می‌شود. موتاسیون کروموزومی در ژن‌های ساختاری DNA گیراز، مهم‌ترین دلیل مقاومت نسبت به فلوروکیتولون‌ها می‌باشد (۱۲-۱۱).

در تحقیقی بر روی *Pseudomonas aeruginosa*، استفاده از ترکیب ۴ ژن *oprL*، *ETA*، *gyrB* و *16SrDNA* در روش Multiplex-PCR (Multiplex-polymerase chain reaction) به عنوان روشی با قابلیت اعتماد بالا و تشخیص جامع که برای غربالگری عفونت زخم و کمک به درمان مناسب است، معرفی می‌شود (۱۱). هدف این مطالعه، تعیین ژن‌های *oprL*، *ETA*، *gyrB* و *16SrDNA* در نمونه‌های *Pseudomonas aeruginosa* جدا شده از نمونه‌های بالینی بود.

روش‌ها

در این مطالعه‌ی مقطعی-توصیفی، بر اساس مطالعات قبلی و سطح اطمینان ۹۵ درصد و خطای قابل قبول ۰/۰۵، نمونه‌های مختلف بالینی

جدول ۱. توالی پرایمرهای مورد استفاده جهت انجام Multiplex-PCR (Multiplex-polymerase chain reaction)

پرایمر	توالی پرایمر (5' to 3')	ژن هدف	اندازه‌ی باند (bp)
gyrB-F	CCTGACCATCCGTCGCCACAAC	gyrB	۲۲۲
gyrB-R	CGCAGCAGGATGCCGACGCC	gyrB	۲۲۲
ETA-F	GACAACGCCCTCAGCATCACCA	ETA	۳۹۷
ETA-R	CGCTGGCCCATTCGCTCCAGCG	ETA	۳۹۷
oprL-F	ATG GAAATGCTGAAATTCGGC	oprL	۵۰۴
oprL-R	CTTCTTCAGCTCGACGCGACG	oprL	۵۰۴
Pa16s-F	GGGGGATCTTCGGACCTCA	16SrDNA	۹۵۶
Pa16s-R	TCCTTAGAGTGCCACCCG	16SrDNA	۹۵۶

جدول ۲. توزیع فراوانی ایزوله‌های *Pseudomonas aeruginosa* جدا شده از نمونه‌های بالینی

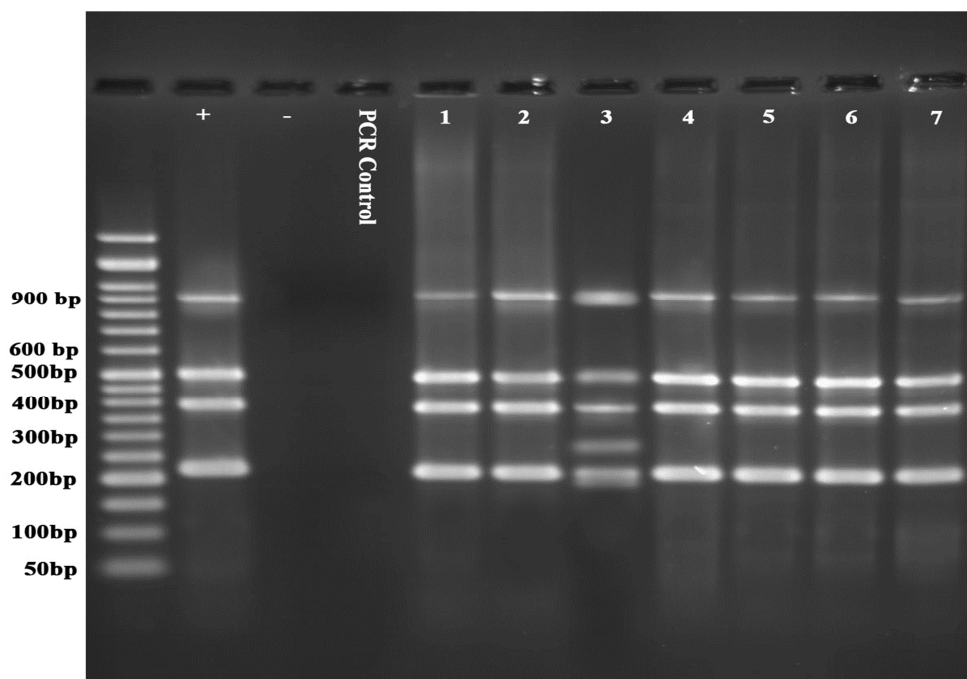
نوع نمونه	تعداد (درصد) نمونه‌ها
ادار	۲۵ (۴۵)
زخم	۱۰ (۱۸)
تراشه	۶ (۱۱)
خلط	۵ (۹)
آبسه	۴ (۷)
خون	۳ (۵)
مایعات بدن	۲ (۴)
جمع	۵۵ (۱۰۰)

نتایج حاصل از شناسایی مولکولی به روش Multiplex PCR برای شناسایی ژن‌های gyrB با طول باند ۲۲۲ bp و 16SrDNA با طول باند ۹۵۶ bp در همه‌ی نمونه‌ها (۱۰۰ درصد) شناسایی شد. همچنین، از مجموع نمونه‌ها، ۹۶/۳۶ درصد دارای ژن oprL با طول باند ۵۰۴ bp و ۹۴/۵ درصد واجد ژن ETA با طول باند ۳۹۷ bp بودند (شکل ۱).

۰/۸ میکرولیتر، پرایمرهای مورد استفاده هر کدام ۰/۶ میکرولیتر، آنزیم Taq polymerase به میزان ۰/۲۵ میکرولیتر، نمونه‌ی DNA ۴ میکرولیتر در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر تهیه گردید. آزمون Multiplex-PCR در دستگاه BIORAD انجام شد. جهت بررسی محصول Multiplex-PCR نمونه‌ها بر روی ژل آگارز ۱ درصد انتقال داده شد و بعد از رنگ‌آمیزی در دستگاه ژل داگ BIORAD مورد بررسی قرار گرفت. داده‌های آماری با نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۹ (version 19, SPSS Inc., Chicago, IL) و با استفاده از آزمون‌های آماری توصیفی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت

یافته‌ها

این تحقیق بر روی ۵۵ ایزوله‌ی جداسازی شده از بیماران با علائم بالینی انجام گرفت. نوع نمونه‌های بالینی مختلف جمع‌آوری شده در جدول ۲ آمده است. بیشترین تعداد نمونه‌ها مربوط به ادار (۴۵ درصد) و زخم (۱۸ درصد) بوده است که از بیماران بستری جداسازی گردید. کلونی نمونه‌های خلط و تراشه‌ی رشد یافته بر روی محیط MacConkey agar، به صورت موکونیدی بود و هم‌زمان کلیه‌ی نمونه‌هایی که بر روی محیط Cetrimide agar کشت داده شده بودند، پیگمان پیورورین (سبز) تولید کرده بودند.



شکل ۱. نتایج واکنش PCR (polymerase chain reaction) برای شناسایی ژن‌های oprL, ETA, 16SrDNA که تکثیر ناحیه‌ی ۲۲۲ bp, ۳۹۷ bp, ۵۰۴ bp و ۹۵۶ bp بیان‌گر مثبت بودن نمونه می‌باشد. به ترتیب، شاهد مثبت، شاهد منفی، شاهد PCR، نمونه‌های *Pseudomonas aeruginosa* ۱-۷ حاوی ژن‌های مورد بررسی

بحث

در این تحقیق، ژن‌های *gyrB* و *16SrDNA* (به خصوص ژن *gyrB*) با بیشترین میزان فراوانی در بین ژن‌های مورد استفاده به میزان ۱۰۰ درصد، بیان‌گر وجود موتاسیون در بین نمونه‌های *Pseudomonas aeruginosa* جداسازی شده بود. این امر، نشان دهنده وجود عوامل عفونی مقاوم به درمان از جمله *Pseudomonas aeruginosa* به عنوان شایع‌ترین عامل در مراکز درمانی می‌باشد. نجفی مصلح و همکاران، طی مطالعه‌ای با استفاده از PCR به این نتیجه دست یافتند که استفاده از روش Multiplex-PCR، از نظر شناسایی ژن‌های *ETA* و *oprL* به ترتیب دارای حساسیت ۶۸ و ۷۰ درصد می‌باشد (۸). در تحقیق حاضر نیز استفاده از این روش به طور کامل اثبات گردید.

Khan و Cerniglia برای اولین بار از آگزوتوکسین A جهت شناسایی *Pseudomonas aeruginosa* استفاده و مشخص نمودند که ۹۶ درصد نمونه‌ها، دارای ژن *ETA* بوده‌اند (۱۶). در طی جهت شناسایی *Pseudomonas aeruginosa* با استفاده از دو ژن *ETA* و *oprL* صورت گرفت که فراوانی ژن *oprL* بیشتر از *ETA* گزارش گردید (۱۷). نتایج این مطالعات با تحقیق حاضر همخوانی داشت و درصد جداسازی ژن *oprL* در این بررسی ۹۶/۳۶ و ژن *ETA* ۹۴/۵ درصد بود. ژن *oprL* در سیستم‌های انتقالی و یا قابلیت نفوذ پذیری سلول باکتری نقش دارد و جهت تشخیص گونه به کار می‌رود (۲). de Vos و همکاران گزارش دادند که ۸۲ سویه‌ی *Pseudomonas aeruginosa* جدا شده از عفونت‌های سوختگی همگی واجد ژن *oprL* بودند. همچنین، این محقق برای اولین بار از ژن *OprL* برای شناسایی گونه‌ی *Pseudomonas aeruginosa* استفاده نمود و طبق نتایج به دست آمده، این ژن از حساسیت بسیار بالایی برای شناسایی *Pseudomonas aeruginosa* برخوردار بوده است (۲).

Xu و همکاران از ژن *oprL* برای شناسایی سریع *Pseudomonas aeruginosa* استفاده و بیان نمودند که ژن لیپوپروتئین غشای خارجی *Pseudomonas aeruginosa* در بیماران مبتلا به فیروز سیستمیک منجر به شناسایی سریع این باکتری می‌شود

و در مقایسه با روش کشت دارای ارجحیت است (۱۷). در بررسی یوسفی مشعوف و همکاران بر روی ژن آگزوتوکسین A سویه‌های *Pseudomonas aeruginosa* جداسازی شده از زخم سوختگی در همدان، ۹۳/۶۷ درصد سویه‌ها دارای ژن *ETA* بودند و نتایج حاصل نشان داد که حساسیت روش PCR با واسطه‌ی ژن *ETA* در شناسایی سویه‌های *Pseudomonas aeruginosa* قابل توجه است و می‌توان از آن به عنوان یک عامل مؤثر با دقت بالا در تشخیص سویه‌های *Pseudomonas aeruginosa* استفاده کرد (۱۸). در مطالعه‌ی امینی و همکاران نیز بیش از ۹۵ درصد سویه‌های *Pseudomonas aeruginosa*، دارای ژن *ETA* بود (۶). همچنین، در مطالعه‌ی نیک‌بین و همکاران مشاهده شد که ژن *oprL* دارای ویژگی پایین و حساسیت بالا در شناسایی *Pseudomonas aeruginosa* می‌باشد (۹). مقایسه‌ی نتایج سایر مطالعات با تحقیق حاضر، مؤید این نکته می‌باشد که میزان فراوانی این ژن‌ها با توجه به منطقه‌ی جداسازی و یا نوع نمونه، تا حدودی تفاوت دارد، اما از ویژگی بالا جهت تشخیص برخوردار می‌باشد.

در انتها، باید گفت که با توجه به مزایای روش‌های مولکولی نسبت به روش‌های بیوشیمیایی، استفاده از روش‌های مولکولی در تشخیص باکتری‌های مولد عفونت‌های بیمارستانی از جمله *Pseudomonas aeruginosa*، می‌تواند روش مناسب و سریع در تشخیص عامل عفونت و در نتیجه انتخاب روش صحیح درمان و جلوگیری از عوارض بیشتر عفونت در بیماران شود. همچنین، شناسایی عوامل مؤثر در بیماری‌زایی *Pseudomonas aeruginosa* می‌تواند در انتخاب روش‌های پیش‌گیری و درمان مناسب عفونت‌های مختلف سودوموناس کاربرد داشته باشد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان کمال تشکر و سپاسگزاری خود را از کارشناسان آزمایشگاه گروه پژوهشی میکروبیولوژی پاسارگاد به ویژه جناب آقایان دکتر کیومرث امینی، دکتر علیرضا مختاری، مهندس ابوالفضل مقدم و رامین خاکی جوان که در انجام مراحل عملی این تحقیق یاری نمودند، اعلام می‌دارد.

References

- Girlich D, Naas T, Leelaporn A, Poirel L, Fennewald M, Nordmann P. Nosocomial spread of the integron-located *veb-1*-like cassette encoding an extended-spectrum beta-lactamase in *Pseudomonas aeruginosa* in Thailand. *Clin Infect Dis* 2002; 34(5): 603-11.
- de Vos D, Lim A, Jr., Pirnay JP, Struelens M, Vandenvelde C, Duinslaeger L, et al. Direct detection and identification of *Pseudomonas aeruginosa* in clinical samples such as skin biopsy specimens and excretions by multiplex PCR based on two outer membrane lipoprotein genes, *oprI* and *oprL*. *J Clin Microbiol* 1997; 35(6): 1295-9.
- Procop GW. Molecular diagnostics for the detection and characterization of microbial pathogens. *Clin*

- Infect Dis 2007; 45(Suppl 2): S99-S111.
4. Armstrong S, Yates SP, Merrill AR. Insight into the catalytic mechanism of *Pseudomonas aeruginosa* exotoxin A. Studies of toxin interaction with eukaryotic elongation factor-2. *J Biol Chem* 2002; 277(48): 46669-75.
 5. Hussein SN. Detection of Exo A and OPR I genes in *Pseudomonas aeruginosa* using polymerase chain reaction. *Iraqi J Biotech* 2013; 12(1): 44-50.
 6. Amini B, Kamali M, Zarei Mahmood Abadi A, Mortazavi Y, Ebrahim Habibi A, Bayat E, et al. Cloning of catalytic domain of exotoxin A from *Pseudomonas aeruginosa*. *J Zanzan Univ Med Sci* 2010; 18(71): 24-33. [In Persian].
 7. Aslani MM, Hahsemipour M, Nikbin VS, Shahcheraghi F, Eidi A, Sharafi Z. PCR identification of *Pseudomonas aeruginosa* based on two outer membrane lipoprotein oprI, oprL, and exotoxin A gene. *Yafteh* 2009; 11(2): 21-6. [In Persian].
 8. Najafimosleh M, Rashnotaie S, Ghaznavi Rad E, Abtahi H, Taleie Gh. Designing of the specific DNA primers for detection of the *exoA*, *oprL* and *algD* pathogenicity genes for rapid diagnosis of *Pseudomonas aeruginosa*. *Tehran Univ Med J* 2013; 71(8): 493-501. [In Persian].
 9. Nikbin VS, Aslani MM, Sharafi Z, Hashemipour M, Shahcheraghi F, Ebrahimipour GH. Molecular identification and detection of virulence genes among *Pseudomonas aeruginosa* isolated from different infectious origins. *Iran J Microbiol* 2012; 4(3): 118-23.
 10. Singh A, Goering RV, Simjee S, Foley SL, Zervos MJ. Application of molecular techniques to the study of hospital infection. *Clin Microbiol Rev* 2006; 19(3): 512-30.
 11. Salman M, Ali A, Haque A. A novel multiplex PCR for detection of *Pseudomonas aeruginosa*: A major cause of wound infections. *Pak J Med Sci* 2013; 29(4): 957-61.
 12. Daikos GL, Lolans VT, Jackson GG. Alterations in outer membrane proteins of *Pseudomonas aeruginosa* associated with selective resistance to quinolones. *Antimicrob Agents Chemother* 1988; 32(5): 785-7.
 13. Brooks GF, Butel JS, Morse SA. Jawetz, Melnick, and Adelberg's medical microbiology. 23th ed. New York, NY: McGraw-Hill Medical; 2004. p. 401-7.
 14. Farmer JJ, Herman LG. Pyocin typing of *Pseudomonas aeruginosa*. *J Infect Dis* 1974; 130(Suppl): S43-S46.
 15. Tang YW, Stratton ChW. Advanced techniques in diagnostic microbiology. New York, NY: Springer; 2006.
 16. Khan AA, Cerniglia CE. Detection of *Pseudomonas aeruginosa* from clinical and environmental samples by amplification of the exotoxin A gene using PCR. *Appl Environ Microbiol* 1994; 60(10): 3739-45.
 17. Xu J, Moore JE, Murphy PG, Millar BC, Elborn JS. Early detection of *Pseudomonas aeruginosa*--comparison of conventional versus molecular (PCR) detection directly from adult patients with cystic fibrosis (CF). *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2004; 3: 21.
 18. Yousefi Mashouf R, Esmaeili R, Yousef Alikhani M, Ghanbari M. Evaluation of exotoxin A gene and frequency of polymerase chain reaction sensitivity in detection of *pseudomonas aeruginosa* isolated from burn patients. *Tehran Univ Med J* 2014; 72(3): 167-73. [In Persian].

Molecular Detection of the Genes *gyrB*, *oprL*, *ETA*, *16SrDNA* in *Pseudomonas Aeruginosa* Strains Isolated from Clinical Samples of Karaj City Health Centers, Iran

Mahsa Ataee-Ashtiani MSc¹, Taghi Zahraei-Salehi PhD²

Original Article

Abstract

Background: *Pseudomonas aeruginosa* is one of the most important factors for nosocomial infections, particularly in immunosuppressed patients such as children. Study on the genes *gyrB*, *oprL*, *ETA*, *16SrDNA* is essential to develop prevention programs; in this study, we tried to study these genes in an Iranian population using multiplex-polymerase chain reaction (multiplex PCR) method.

Methods: 55 different strains of *Pseudomonas aeruginosa* from clinical specimens collected from Karaj City Health Centers, Iran, after cultivation on the cetrimid agar and MacConkey agar media were detected via biochemical tests. DNA was extracted from bacterial genomics and the sequencing of target genes *gyrB*, *oprL*, *ETA*, *16SrDNA* was amplified.

Findings: Molecular test results showed that the frequencies of *oprL*, *ETA*, *gyrB* and *16SrDNA* genes were 96.36, 94.50, 100 and 100 percent, respectively.

Conclusion: The results show that the genes *oprL* and *ETA* are more sensitive and less specific for detecting *Pseudomonas aeruginosa*; but, using the genes *gyrB* and *16SrDNA* has the most specificity. Simultaneous use of the genes *oprL*, *ETA*, *16SrDNA* and *gyrB* would provide enough sensitivity to detect *Pseudomonas aeruginosa* from clinical specimens.

Keywords: *Pseudomonas aeruginosa*, *16SrDNA*, Gene

Citation: Ataee-Ashtiani M, Zahraei-Salehi T. Molecular Detection of the Genes *gyrB*, *oprL*, *ETA*, *16SrDNA* in *Pseudomonas Aeruginosa* Strains Isolated from Clinical Samples of Karaj City Health Centers, Iran. J Isfahan Med Sch 2016; 33(360): 2043-8

1- Department of Microbiology, Saveh Branch, Islamic Azad University, Saveh, Iran

2- Professor, Department of Microbiology, School of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

Corresponding Author: Taghi Zahraei-Salehi PhD, Email: tsalehi@ut.ac.ir

ارزش اخباری مثبت شناسایی IgM اختصاصی در تشخیص عفونت حاد سرخجه

سید محمود سیدخرمی^۱، دکتر طلعت مختاری آزاد^۲، دکتر ژیلایا یاوریان^۳، ناهید مقدم نیا^۴، آزاده شاداب^۵، فاطمه عجمی نژاد فرد^۶، اعظم صبوری^۷، فاطمه سعادت‌مند^۷، دکتر نازنین زهرا شفیعی جندقی^۳

مقاله کوتاه

چکیده

مقدمه: ارتباط بین ناهنجاری‌های مادرزادی و عفونت اولیه سرخجه به خصوص در سه ماهه اول بارداری سبب الزامی شدن واکسیناسیون همگانی گردید. شناسایی IgM (Immunoglobulin M) اختصاصی سرخجه، متداول‌ترین روش آزمایشگاهی تشخیص عفونت اولیه سرخجه می‌باشد. در ایران پس از واکسیناسیون سراسری، اپیدمی بیماری سرخجه گزارش نشده است. با این حال، موارد مثبت IgM سرخجه همچنان مشاهده می‌شود. از آن جایی که نزدیک شدن به مرحله حذف یک بیماری ویروسی، باعث کاهش موارد ابتلا و کاهش ارزش اخباری مثبت آزمون شناسایی آن می‌شود، در این مطالعه ارزش اخباری مثبت آزمون IgM سرخجه در شناسایی عفونت حاد مورد بررسی قرار گرفت.

روش‌ها: در این پژوهش، سرم افراد مبتلا به تب و بثورات که در سه سال متوالی از سر تا سر کشور جمع‌آوری شده بود، از نظر وجود IgM اختصاصی سرخجه بررسی و برای تمام موارد IgM مثبت، سنجش IgG avidity انجام شد.

یافته‌ها: ارزش اخباری آزمون IgM در شناسایی عفونت حاد سرخجه ۱۵/۸ درصد محاسبه شد.

نتیجه‌گیری: جمع‌بندی نتایج نشان داد که با وجود پوشش مناسب واکسن در کشور، مشاهده‌ی بخش قابل توجهی از موارد مثبت IgM سرخجه، دلیلی به جز ابتلا به عفونت حاد سرخجه دارد. بنا بر این، برای غربال‌گری سرخجه، نباید تنها به نتیجه‌ی مثبت IgM اکتفا کرد.

واژگان کلیدی: عفونت حاد سرخجه، شناسایی IgM، ارزش اخباری مثبت

ارجاع: سیدخرمی سیدمحمود، مختاری آزاد طلعت، یاوریان ژیلایا، مقدم نیا ناهید، شاداب آزاده، عجمی نژاد فرد فاطمه، صبوری اعظم، سعادت‌مند فاطمه، شفیعی جندقی نازنین زهرا. **ارزش اخباری مثبت شناسایی IgM اختصاصی در تشخیص عفونت حاد سرخجه.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۴؛ ۳۳ (۳۶۰): ۲۰۵۳-۲۰۴۹

مقدمه

سرخجه، یک عفونت ویروسی ملایم می‌باشد. با این حال، ارتباط بین ناهنجاری‌های مادرزادی (Congenital rubella syndrome) و عفونت اولیه سرخجه در مادران باردار، به ویژه در سه ماهه اول بارداری، سبب الزامی شدن واکسیناسیون همگانی (Mass vaccination) گردید (۱). در ایران، در آذرماه سال ۱۳۸۲، تمام افراد گروه‌های سنی ۵-۲۵ سال واکسن MR

(Measles and Rubella) دریافت نمودند. اولین بار، واکسن MMR (Measles, Mumps and Rubella) در سال ۱۳۸۳ در برنامه‌ی واکسیناسیون ایران قرار داده شد (۲). پس از واکسیناسیون سراسری، هیچ گونه اپیدمی بیماری سرخجه در کشور گزارش نگردیده است. با این وجود، در ایران نیز مانند سایر کشورها، همچنان موارد مثبت IgM (Immunoglobulin M) سرخجه مشاهده می‌شود (۳).

۱- کارشناس ارشد، گروه ویروس‌شناسی، دانشکده‌ی بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۲- استاد، آزمایشگاه ملی سرخک/سرخجه‌ی کشوری و گروه ویروس‌شناسی، دانشکده‌ی بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۳- استادیار، گروه ویروس‌شناسی، دانشکده‌ی بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۴- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه ویروس‌شناسی، دانشکده‌ی بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۵- کارشناس آزمایشگاه، گروه ویروس‌شناسی، دانشکده‌ی بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۶- کارشناس ارشد، مرکز بیماری‌های قابل پیش‌گیری با واکسن، مرکز کنترل بیماری‌ها، وزارت درمان، بهداشت و آموزش پزشکی، تهران، ایران

۷- کارشناس، گروه ویروس‌شناسی، دانشکده‌ی بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

Email: nz-shafiei@tums.ac.ir

نویسنده‌ی مسؤول: دکتر نازنین زهرا شفیعی جندقی

عملی کیت انجام شد. مشخصات تمام کیت های مورد استفاده در جدول ۱ آمده است. همچنین، معیار تقسیم بندی IgG avidity سرخجه به دو گروه High avidity و Low avidity در مطالعه حاضر، ۵۳ درصد در نظر گرفته شد (۷). در نهایت، ارزش اخباری آزمایش IgM سرخجه با توجه به نتایج حاصل محاسبه گردید.

با توجه به این که نمونه‌ها از تمامی استان‌ها جهت پایش کشوری، جمع‌آوری و به مرکز ملی سرخک و سرخجه ارسال می‌شود، ملاحظات اخلاقی خاصی ضرورت نداشت.

جدول ۱. مشخصات کیت‌های مورد استفاده در این مطالعه

مشخصات کیت
SIEMENS Enzygnost® Anti-Rubella Virus/IgM
Enzygnost® Anti-Rubella-Virus/IgG SIEMENS
Novagnost® Parvovirus B19 IgM
SIEMENS Enzygnost® Anti-Measles Virus/IgM
ELISA ANTI-EBV(VCA)-IgG /-IgM VIRO-Immun
ELISA ANTI-CMV-IgG /-IgM/-IgA VIRO-Immun

یافته‌ها

در مجموع، ۱۰۸۹۶ نمونه‌ی مشکوک به سرخجه طی سال‌های ۱۳-۲۰۱۱ بررسی شد که فقط ۵۷ مورد از نظر IgM سرخجه مثبت بود. شایان ذکر است که موارد مثبت IgM با فاصله‌ی زمانی کمتر از دو ماه از دریافت واکسن، مطابق توصیه‌ی سازمان بهداشت جهانی در اثر واکسن قلمداد و از مطالعه خارج شد. فراوانی مطلق موارد مثبت IgM سرخجه برای سال‌های ذکر شده به ترتیب ۱۶، ۲۱ و ۲۰ مورد و فراوانی نسبی آن به ترتیب ۰/۵۹، ۰/۵۰ و ۰/۵۰ درصد و در مجموع برای هر سه سال، ۵۷ مورد (۰/۵۲ درصد) بود (IgG avidity اختصاصی سرخجه در ۲۷ مورد پایین و در ۳۰ مورد بالا بود).

همان‌طور که ذکر شد، برای تمامی این ۵۷ نمونه، سنجش IgG avidity سرخجه، همچنین بررسی IgM اختصاصی سرخک، پاروویروس B19، EBV و CMV با آزمون ELISA انجام شد که به ترتیب ۷، ۵، ۱ و ۳ مورد برای هر ویروس همچنین، ۲ مورد برای EBV/CMV همزمان یعنی در مجموع ۱۸ مورد مثبت شناسایی شد.

بحث

با این که شناسایی IgM سرمی سرخجه، همچنان بهترین روش غربالگری عفونت سرخجه‌ی حاد می‌باشد (۸)، مطالعات نشان می‌دهند که در تشخیص عفونت تک‌گیر سرخجه، تفسیر نتایج مثبت IgM اختصاصی سرخجه، کار چندان راحتی نیست. موارد متعددی از مثبت شدن ELISA در عدم وجود عفونت اثبات شده‌ی سرخجه، می‌تواند به دلایلی چون تولید پایدار IgM و نیز در اثر واکنش متقاطع

اگرچه در تشخیص عفونت اولیه‌ی سرخجه، شناسایی IgM اختصاصی سرخجه متداول است اما در مواردی این آزمایش به تنهایی قابل اطمینان نمی‌باشد. این موارد عبارت از واکنش متقاطع با ویروس‌های دیگر، تولید طولانی مدت IgM به دنبال عفونت اولیه و یا واکنش‌های سرخجه و افزایش سطح آنتی‌بادی IgM به دنبال عفونت مجدد سرخجه می‌باشد (۴-۵).

طی سال‌های اخیر در ایران، تعداد محدودی IgM مثبت سرخجه در سال گزارش شده است. واقعیت این است که تشخیص قطعی سرخجه‌ی حاد در این موارد به بررسی دقیق‌تر نیاز دارد. به عبارت دیگر، این سؤال مطرح می‌شود که «مثبت بودن آزمون IgM اختصاصی سرخجه تا چه حدی ممکن است ناشی از وجود عفونت واقعی سرخجه باشد؟». آن چه که به این سؤال پاسخ می‌دهد، ارزش‌های اخباری مثبت (Positive predictive value) این آزمون می‌باشد.

مطالعات نشان می‌دهند که با انجام واکنش‌های واکسیناسیون و نزدیک شدن به مرحله‌ی حذف یک بیماری ویروسی، کاهش موارد ابتلا به بیماری منجر به کاهش ارزش اخباری مثبت آزمون تشخیصی آن عفونت ویروسی می‌شود. این مسأله در مورد بررسی IgM اختصاصی سرخجه به روش Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) نیز صادق است (۶).

در شرایطی که پوشش مناسب واکنش‌های واکسیناسیون کشوری منجر به کاهش میزان ابتلا به سرخجه شده است، در این مطالعه، کلیه‌ی موارد بیماری‌های بثوری در سه سال متوالی در سرتاسر ایران، ابتدا از نظر وجود IgM اختصاصی سرخجه بررسی شدند. سپس تمامی موارد IgM مثبت برای تفسیر دقیق‌تر و حذف موارد مثبت کاذب مورد ارزیابی قرار گرفتند و ارزش اخباری مثبت آزمون سنجش IgM سرخجه در شناسایی عفونت حاد محاسبه گردید.

روش‌ها

در این پژوهش مقطعی، ۱۰۸۹۶ نمونه‌ی سرم بیماران مشکوک به سرخجه که در سال‌های ۱۳-۲۰۱۱ از سرتاسر کشور جمع‌آوری و به مرکز ملی سرخک/سرخجه کشور واقع در گروه ویروس شناسی دانشکده‌ی بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران ارسال شده بودند، از نظر وجود IgM اختصاصی سرخجه بررسی شدند و برای کلیه‌ی موارد مثبت در این آزمون (۵۷ مورد)، سنجش IgG avidity سرخجه، همچنین شناسایی IgM اختصاصی سرخک، پاروویروس B19 (Parvovirus B19)، CMV (Cytomegalovirus) و EBV (Epstein-Barr Virus) انجام شد. انتخاب این چهار ویروس از جهت امکان ایجاد واکنش متقاطع IgM آن‌ها با IgM سرخجه و شایع بودن آن‌ها در ایران صورت گرفت. لازم به ذکر است که تمام موارد پیش گفته به روش ELISA و طبق راهنمایی

موارد (۱۰ مورد) با تردید بیشتری همراه بود؛ با این حال، بالا بودن IgG avidity و داشتن سابقه‌ی واکنش‌های واکنش‌های در گذشته‌ی دور (۲۰-۱۰ سال قبل) احتمال واقعی بودن نتایج مثبت IgM سرخجه در این نمونه‌ها را منتفی کرد.

به این ترتیب، با انجام مطالعه‌ی حاضر و با توجه به نتایج به دست آمده از آن، ارزش اخباری آزمون IgM سرخجه با محاسبه‌ی نسبت موارد مثبت واقعی به کل موارد مثبت، ۱۵/۸ درصد به دست آمد.

مطالعات انجام شده روی نمونه‌های بثوری در سایر کشورها نیز نتایج مشابه مطالعه‌ی حاضر را نشان دادند. در فنلاند، مطالعه‌ی سبب‌شناسی بیماری‌های شبه سرخک- سرخجه پس از واکنش‌های واکنش‌های سراسری نشان داد که اکثر موارد بروز راش مشکوک به سرخک یا سرخجه در کودکانی که قبلاً واکنس دریافت کرده بودند، به علت سایر عوامل ویروسی ایجاد شده بود و ابتلای آن‌ها به سرخک و سرخجه، با تشخیص آزمایشگاهی رد شد (۱۳). وجود واکنش متقاطع IgM بین عفونت‌های ویروسی در پژوهش‌های متعددی مشاهده شده است (۱۴). به عنوان مثال، عفونت با EBV و پاروویروس B19، با تحریک فعال‌سازی پلی‌کلونال سلول B، می‌تواند منجر به ایجاد پاسخ IgM اختصاصی و غیر اختصاصی سرخجه گردد (۱۵). همچنین، واکنش متقاطع IgM عفونت‌های ویروسی مثل CMV و سرخک با IgM سرخجه نیز گزارش شده است (۱۶).

علاوه بر موارد پیش گفته، پایداری طولانی مدت IgM سرخجه (پس از عفونت طبیعی یا در اثر واکنش‌های واکنش‌های) که گاهی تا ۶ سال نیز مشاهده شده است، می‌تواند یکی از علل ایجاد اختلال در تشخیص عفونت حاد سرخجه باشد (۸).

در پایان، با جمع‌بندی نتایج این مطالعه، ارزش اخباری آزمون ELISA برای IgM ۱۵/۸ درصد محاسبه گردید و نشان داده شد که به دلیل پوشش مناسب واکنش‌های واکنش‌های در کشور، بخش قابل توجهی از موارد مثبت IgM سرخجه در اثر عوامل دیگری به جز ابتلا به عفونت حاد سرخجه ایجاد می‌شود. بنا بر این، برای غربال‌گری سرخجه، نباید تنها به نتیجه‌ی مثبت IgM اکتفا کرد و جهت تأیید، به ویژه در خانم‌های باردار به منظور ممانعت از سقط‌های بی‌مورد، آزمایش‌های تکمیلی لازم است که مهم‌ترین آن‌ها، بررسی IgG avidity اختصاصی سرخجه می‌باشد.

تشکر و قدردانی

از تمامی کارکنان مرکز ملی سرخک و سرخجه‌ی کشوری واقع در گروه ویروس‌شناسی دانشکده‌ی بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران سپاسگزاری می‌گردد. این پژوهش با گرانت شماره‌ی ۲۳۶۶۹ دانشکده‌ی بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام شده است.

با IgM سایر عفونت‌های ویروسی باشد (۷-۹). افتراق این گونه موارد از عفونت اولیه‌ی سرخجه، در شرایط نزدیک شدن کشور به مرحله‌ی حذف بسیار مهم می‌باشد؛ چرا که در شرایطی که پوشش واکنش‌های واکنش‌های به نسبت مناسبی وجود دارد، ارزش اخباری آزمون ELISA برای عفونت سرخجه کاهش یافته است (۱۱-۱۰).

در همین راستا، شناسایی موارد بثوری با IgM مثبت سرخجه، همچنین افتراق موارد عفونت واقعی سرخجه از سایر عواملی که می‌توانند باعث مثبت شدن IgM و گزارش بیش از موارد واقعی سرخجه باشند، به عنوان هدف مطالعه‌ی حاضر در نظر گرفته شد تا ارزش اخباری مثبت آزمون IgM سرخجه مورد ارزیابی قرار گیرد. نتایج حاصل از سنجش IgG avidity سرخجه نشان داد که از مجموع ۵۷ نمونه، ۳۰ مورد دارای High avidity IgG (بیش از ۵۳ درصد) و ۲۷ مورد دارای Low avidity IgG (کمتر از ۵۳ درصد) و فاقد IgG بودند. مطالعات نشان می‌دهند حضور Low avidity IgG نشانه‌ی عفونت اولیه‌ی سرخجه می‌باشد (۱۲-۴).

از نظر بررسی وجود IgM اختصاصی سایر ویروس‌ها، از مجموع ۵۷ نمونه، ۱۸ مورد مثبت شناسایی شد که ۷ مورد سرخک، ۵ مورد پاروویروس B19، ۱ مورد EBV، ۳ مورد CMV و ۲ مورد نیز به طور هم‌زمان CMV و EBV مثبت بودند. شایان ذکر است که اساس مثبت در نظر گرفتن نتایج ELISA، میزان OD (Optical density) بوده است.

لازم به ذکر است که در تفسیر نتایج، وضعیت واکنش‌های واکنش‌های فرد و زمان سپری شده از دریافت واکنس نیز در نظر گرفته شد و تمام ۵۷ نمونه‌ی مثبت از نظر IgM سرخجه به صورت زیر تفسیر شد:

عفونت اولیه‌ی سرخجه تنها در ۹ مورد (۱۵/۸ درصد) بر اساس فقدان IgG سرخجه و یا حضور Low avidity IgG، عدم وجود سابقه‌ی واکنش‌های واکنش‌های و نیز عدم شناسایی حضور IgM اختصاصی سایر ویروس‌های مطالعه شده تأیید گردید.

نتیجه‌ی IgM سرخجه در ۱۸ مورد (۳۱/۶ درصد) بر اساس بالا بودن IgG avidity، حداقل یک بار سابقه‌ی واکنش‌های واکنش‌های و نیز مثبت شدن IgM اختصاصی سایر ویروس‌ها، مثبت کاذب و در اثر واکنش متقاطع با IgM ویروس‌های سرخک، پاروویروس B19، CMV و EBV شناخته شد.

در ۲۰ مورد (۳۵/۰۸ درصد) احتمال طولانی شدن تولید IgM سرخجه پس از دریافت واکنس وجود داشت که در ۱۱ مورد (۱۹/۳ درصد) فاصله‌ی نمونه‌گیری از دریافت واکنس در آن‌ها کمتر از یک سال و Low avidity بود. در ۹ مورد (۱۵/۷۸ درصد) ۶-۱ سال از دریافت واکنس گذشته بود و High avidity مشاهده شد. شناسایی عامل احتمالی مثبت شدن IgM سرخجه در بقیه‌ی

References

- Berger BE, Omer SB. Could the United States experience rubella outbreaks as a result of vaccine refusal and disease importation? *Hum Vaccin* 2010; 6(12): 1016-20.
- Esteghamati A, Gouya MM, Zahraei SM, Dadras MN, Rashidi A, Mahoney F. Progress in measles and rubella elimination in Iran. *Pediatr Infect Dis J* 2007; 26(12): 1137-41.
- Usonis V, Anca I, Andre F, Chlibek R, Cizman M, Ivaskeviciene I, et al. Rubella revisited: where are we on the road to disease elimination in Central Europe? *Vaccine* 2011; 29(49): 9141-7.
- Vauloup-Fellous C, Grangeot-Keros L. Humoral immune response after primary rubella virus infection and after vaccination. *Clin Vaccine Immunol* 2007; 14(5): 644-7.
- Khorrani SM, Mokhtari-Azad T, Yavarian J, Nasab GS, Naseri M, Jandaghi NZ. The etiology of Rubella IgM positivity in patients with rubella-like illness in Iran from 2011 to 2013. *J Med Virol* 2015; 87(11): 1846-52.
- Pandolfi E, Chiaradia G, Moncada M, Rava L, Tozzi AE. Prevention of congenital rubella and congenital varicella in Europe. *Euro Surveill* 2009; 14(9): 16-20.
- Hamkar R, Jalilvand S, Abdolbaghi MH, Jelyani KN, Esteghamati A, Hagh-goo A, et al. Distinguishing between primary infection and reinfection with rubella vaccine virus by IgG avidity assay in pregnant women. *East Mediterr Health J* 2009; 15(1): 94-103.
- Best JM. Rubella. *Semin Fetal Neonatal Med* 2007; 12(3): 182-92.
- de Paschale M, Manco MT, Paganini A, Agrappi C, Mirri P, Cucchi G, et al. Rubella antibody screening during pregnancy in an urban area of Northern Italy. *Infect Dis Rep* 2012; 4(1): e17.
- Wandinger KP, Saschenbrecker S, Steinhagen K, Scheper T, Meyer W, Bartelt U, et al. Diagnosis of recent primary rubella virus infections: significance of glycoprotein-based IgM serology, IgG avidity and immunoblot analysis. *J Virol Methods* 2011; 174(1-2): 85-93.
- Hamkar R, Jalilvand S, Mokhtari-Azad T, Nouri JK, Dahi-Far H, Soleimanjahi H, et al. Assessment of IgM enzyme immunoassay and IgG avidity assay for distinguishing between primary and secondary immune response to rubella vaccine. *J Virol Methods* 2005; 130(1-2): 59-65.
- Bottiger B, Jensen IP. Maturation of rubella IgG avidity over time after acute rubella infection. *Clin Diagn Virol* 1997; 8(2): 105-11.
- Thomas HI, Barrett E, Hesketh LM, Wynne A, Morgan-Capner P. Simultaneous IgM reactivity by EIA against more than one virus in measles, parvovirus B19 and rubella infection. *J Clin Virol* 1999; 14(2): 107-18.
- Ang LW, Chua LT, James L, Goh KT. Epidemiological surveillance and control of rubella in Singapore, 1991-2007. *Ann Acad Med Singapore* 2010; 39(2): 95-101.
- Dimech W, Panagiotopoulos L, Marler J, Laven N, Leeson S, Dax EM. Evaluation of three immunoassays used for detection of anti-rubella virus immunoglobulin M antibodies. *Clin Diagn Lab Immunol* 2005; 12(9): 1104-8.
- Andrus JK, de Quadros CA. Recent advances in immunization. 2nd ed. Washington, DC: Pan American Health Organization; 2006. p. 113.

Positive Predictive Value of IgM Detection in Diagnosis of Acute Rubella Infection

Seyed-Mahmood Seyed-Khorrami MSc¹, Talat Mokhtari-Azad DVM, MPH, PhD², Jila Yavarian MD, PhD³, Nahid Moghadam-Nia⁴, Azadeh Shadab¹, Fatemeh Adjaminezhad-Fard¹, Azam Sabouri MSc⁵, Fatemeh Saadatmand¹, Nazanin-Zahra Shafiei-Jandaghi PhD³

Short Communication

Abstract

Background: Rubella vaccination is essential due to the relationship between the primary infection and congenital abnormalities. Detection of IgM is the most common method of diagnosing acute rubella infection. In Iran, no rubella outbreak has been reported after the global vaccination; although positive rubella IgM cases have been detected. Approaching elimination of a viral infection, its incidence rate and the positive predictive value (PPV) of the diagnostic test would be reduced. Recently, adequate vaccination coverage leads to a reduction in rubella incidence, in such a situation this study estimated the PPV of rubella specific IgM.

Methods: Serum samples from cases with fever and rash, during three tandem years were collected from all over the country. To evaluate the PPV of IgM detection in acute rubella infection diagnosis, all the sera were subjected to IgM detection, then all IgM positive cases were evaluated via IgG avidity assay.

Findings: The PPV of IgM detection test to detect acute rubella infection was 15.8%.

Conclusion: In conclusion, giving the appropriate immunization coverage in the country, the PPV of detecting rubella IgM was low. Therefore, diagnosis of acute rubella infection should not be confirmed only based on IgM positive result.

Keywords: Acute rubella infection, IgM detection, Positive predictive value

Citation: Seyed-Khorrami SM, Mokhtari-Azad T, Yavarian J, Moghadam-Nia N, Shadab A, Adjaminezhad-Fard F, et al. **Positive Predictive Value of IgM Detection in Diagnosis of Acute Rubella Infection.** J Isfahan Med Sch 2016; 33(360): 2049-53

1- Department of Virology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

2- Professor, National Laboratory for Measles/Rubella AND Department of Virology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

3- Assistant Professor, Department of Virology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

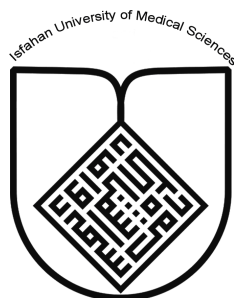
4- MSc Student, Department of Virology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

5- Department of Vaccine-Preventable Diseases, Center of Diseases Control, Ministry of Health and Medical Education, Tehran, Iran

Corresponding Author: Nazanin-Zahra Shafiei-Jandaghi PhD, Email: nz-shafiei@tums.ac.ir

Editorial Board (In alphabetical order)

1. **Mojtaba Abtahi** MD, Associate Professor of Otolaryngology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
2. **Khosrow Adeli** PhD, Professor of Clinical Biochemistry, University of Toronto, Toronto, Canada
3. **Mohammad Esmail Akbari** MD, Professor of Thoracic Surgery, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
4. **Reza Amin** MD, Professor of Pediatrics, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran
5. **Babak Amra** MD, Professor of Pulmonology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
6. **Saeid Andalib Jortani** MD, Professor of Pathology, Lewis Weil University, USA
7. **Gholam Reza Askari** MD, PhD of Nutrition, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
8. **Reza Bagherian-Sararoudi** PhD, Assistant Professor of Psychiatry, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
9. **Majid Berekatain** MD, Professor of Psychiatry, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
10. **Ken Bassett** MD, Professor of Dermatology, Dermatology and Leshmaniosis Research Center, Canada
11. **Ahmad Chitsaz** MD, Associate Professor of Neurology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
12. **Afsoon Emami** MD, Associate Professor of Nephrology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
13. **Ali Reza Emami** MD, Associate Professor of Infectious Diseases, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
14. **Shahin Emami** Biochemistry and Endocrinology, Saint Antoine Hospital, France
15. **Ebrahim Esfandiary** MD, PhD, Professor of Medical Anatomy, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
16. **Faramarz Esmail beigi** MD, Professor of Internal Medicine, School of Medicine, USA
17. **Ziba Farajzadegan** MD, Associate Professor of Community Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
18. **Hamid Fesharaki** Associate Professor of Ophthalmology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
19. **Marjane Foladi** PhD of Nursing, University of Florida, USA
20. **Aziz Gahari** MD, Professor of Dermatology, Dermatology and Leshmaniosis Research Center, Canada
21. **Ali Gheisari** MD, Professor of Cardiovascular Surgery, California, USA
22. **Jafar Golshahi** MD, Associate Professor of Cardiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
23. **Ali Mohammad Hanjani** MD, Professor of Cardiology, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran
24. **Mina Hasanrezaei** MD, NeuroImmunology, School of Pharmacy, USA
25. **Saied Morteza Heidari** MD, Associate Professor of Anesthesiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
26. **Mansour karamooz** MD, Professor of Urology, California, USA
27. **Roya Kelishadi** MD, Professor of Pediatrics, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
28. **Behnaz Khani** MD, Associate Professor of Obstetrics & Gynecology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
29. **Majid Khazaei** MD, PhD, Associate Professor of Medical Physiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
30. **Parvin Mahzooni** MD, Associate Professor of Pathology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
31. **Majid Maleki** MD, Professor of Cardiology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
32. **Mohammad Mardani** MD, Associate Professor of Medical Anatomy, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
33. **Atiye Moghisi** MD, Professor of Endocrinology, Endocrine and Metabolism Research Center, USA
34. **Mehdi Modares** MD, Professor of Ophthalmology, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
35. **Hoshang Moein** MD, Professor of Neurosurgery, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
36. **Fereydoun Nouhi** MD, Professor of Cardiology, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
37. **Mohammadreza Nourbakhsh** Associate Professor of Physiotherapy, USA
38. **Farzin Pourfarzad** Department of Cell Biology and Genetics, Erasmus University MC Rotterdam, The Netherlands
39. **Masoud Pourmoghaddas** MD, Professor of Cardiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
40. **Hassan Razmjou** MD, Professor of Ophthalmology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
41. **Mohammad Reza Safavi** MD, Assistant Professor of Anesthesiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
42. **Reza Rouzbahani** MD, MPH, Assistant Professor of Community Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
43. **Mansour Sholevar** MD, Associate Professor of Cardiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
44. **Masoud Soheilian** MD, Professor of Ophthalmology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran



JOURNAL OF ISFAHAN MEDICAL SCHOOL

Vol. 33, No. 360, 4th Week January 2016

Isfahan University of Medical Sciences

Responsible: **Mansour Sholehvar MD**

Emerita Editor-in-Chief: **Roya Kelishadi MD**

Editor-in-Chief: **Majid Barekatin MD**

Associate Editor: **Maryam Radahmadi PhD**

Published by:

Isfahan University of Medical Sciences

E-mail: publications@mui.ac.ir

Office:

P.O. Box 81744-176, Isfahan, I.R. IRAN

Telefax: +98 31 37922291

E-mail: jims@med.mui.ac.ir

Website: <http://www.journals.mui.ac.ir/jims>

Office Secretary: Golnaz Rajabi

Copy edit, Layout edit, Design and Print:

Farzanegan Radandish Co.

P.O. Box 81465-1798, Isfahan, I.R. IRAN

Telefax: +98 31 36686302

E-mail: esfahanfarzanegan@yahoo.com

f.radandish@gmail.com

www.farzaneganco.ir

Circulation: 500

This journal is indexed in the following international indexes

- Scopus
- Chemical Abstracts
- Islamic World Science Citation Center (ISC)
- Academic Search Complete EBSCO Publishing databases
- WHO/EMRO/Index Medicus
- Google Scholar
- Index Copernicus
- Directory of Open Access Journal (DOAJ)
- Index Academicus
- Scientific Information Database (www.sid.ir)
- www.iranmedex.com

The online version is available in; IUMS website (www.journals.mui.ac.ir/jims), Iran Publications database (www.magiran.com), Scientific Information Database website (www.sid.ir) and in Health Researchers website (www.iranmedex.com).

Copyright: All rights reserved, no part may be reproduced without the prior permission of the publisher.