

### مقاله های پژوهشی

- بررسی فنوتیپی و ژنوتیپی ژن های کارباپنماز در باکتری های گرم منفی مقاوم به کارباپنم و تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی آن ها ..... ۱۲۹۰  
حمید سلگی، حمزه غفارزاده، فرشته شاهچراغی
- بررسی مقایسه ای میزان موفقیت در جداسازی از دستگاه در سه روش جبران لوله ای به طور خودکار و تهیه ی حمایتی فشاری با پنج و هشت سانتی متر آب فشار راه هوایی ..... ۱۲۹۷  
پرویز کاشفی، سعید عباسی، فرزانه کتیرایی، بابک علی کیایی
- طبقه بندی سلول های مؤثر در تشخیص سرطان میلوئیدی مزمن به روش نیمه خودکار پردازش تصاویر میکروسکوپی ..... ۱۳۰۴  
نرجس قانع، علیرضا ورد، اردشیر طالبی، پردیس نعمت الهی
- بررسی سطح سرمی ویتامین D و ارتباط آن با شدت بیماری در بیماران آرتریت روماتوئید ..... ۱۳۱۱  
محسن نوروزی، مهدی غلامزاده بانیس

### گزارش مورد

- درمان لیشمانیوز جلدی مقاوم به گلوکانتیم با درمان توأم آلوپورینول و تری کلرو استیک اسید ۵۰ درصد: گزارش سه مورد ... ۱۳۱۸  
گیتی صادقان، فاطمه سخنوری

### Original Articles

- Evaluation of Phenotypic and Genotypic Carbapenemase Genes in Gram-Negative Bacteria Resistant to Carbapenem and Determining their Antibiotic Resistance ..... 1296  
Hamid Solgi, Hamzeh Ghafarzadeh, Fereshteh Shahcheraghi
- Comparison of the Weaning Rate in Three Mechanical Ventilation Methods, Automatic Tube Compensation and Pressure Support Ventilation with Airway Pressures of Five and Eight Centimeters of Water ..... 1303  
Parviz Kashfi, Said Abbasi, Farzaneh Katiraei, Babak Alikiaii
- Classification of Effective Cells in Diagnosis of Chronic Myeloid Leukemia (CML) Using Semi-automatic Image Processing of Microscopic Images ..... 1310  
Narjes Ghane, Alireza Vard, Ardeshir Talebi, Pardis Nematollahy
- The Serum Level of Vitamin D and its Association with Disease Severity in Patients with Rheumatoid Arthritis ... 1317  
Mohsen Noroozi, Mehdi Gholamzadeh-Baeis

### Case Report

- Treatment of Glucantim<sup>TM</sup>-Resistant Cutaneous Leishmaniasis Using Combination Therapy of Allopurinol and Trichloroacetic Acid (TCA) 50%; Report of Three Cases ..... 1322  
Giti Sadeghian, Fatemeh Sokhanvari



## مجله دانشکده پزشکی اصفهان

سال سی و چهارم، شماره (۴۰۵)، هفته اول دی ماه ۱۳۹۵

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

---

### امور نشر:

(ویراستاری، صفحه‌آرایی، بازبینی، طراحی، چاپ و پشتیبانی آنلاین)

### انتشارات فرزاتگان راداندیش

Email: farapublications@gmail.com

http://farapub.com

تلفن: ۰۳۱-۳۲۲۴۳۳۵

دورنگار: ۰۳۱-۳۲۲۴۳۸۲

تیراژ: ۵۰۰ نسخه

### ناشر:

انتشارات دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

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

Email: publications@mui.ac.ir

صندوق پستی: ۸۱۷۴۴/۱۷۶

دفتر مجله: دانشکده پزشکی

مسئول دفتر: گلناز رجبی

مدیر اجرایی: علی مرادی

دورنگار: ۰۳۱-۳۷۹۲۲۲۹۱

تلفن: ۰۳۱-۳۶۶۹۴۷۳۷

Email: jims@med.mui.ac.ir

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

وب سایت مجله:

---

این مجله در نمایه‌های بین‌المللی زیر در دسترس قرار دارد.

- |   |  |
|---|--|
| ■ Scopus  | ■ Google Scholar                               |
| ■ Chemical Abstracts                                  | ■ Index Copernicus                             |
| ■ Islamic World Science Citation Center (ISC)         | ■ Directory of Open Access Journal (DOAJ)      |
| ■ Academic Search Complete EBSCO Publishing databases | ■ Index Academicus                             |
| ■ WHO/EMRO/Index Medicus                              | ■ 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 محمد رضا اخلاقی	دانشیار، متخصص چشم، فلوشیپ ویتره و رتین، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲- دکتر علی اخوان	استادیار، متخصص رادیوتراپی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳- دکتر ابراهیم اسفندیاری	استاد، دکترای تخصصی علوم تشریحی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۴- دکتر فرامرز اسماعیل بیگی	استاد، فوق تخصص غدد، دانشکده‌ی پزشکی، کالیفرنیا، آمریکا
۵- دکتر احمد اسماعیل زاده	استاد، دکترای تخصصی تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۶- دکتر افسون امامی	دانشیار، فوق تخصص نفرولوژی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۷- دکتر شاهین امامی	گروه بیوشیمی، بیمارستان سن آنتونیو، پاریس، فرانسه
۸- دکتر بابک امرا	استاد، فوق تخصص ریه، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۹- دکتر رضا امین	استاد، متخصص بیماری‌های کودکان، فوق تخصص بیماری‌های ایمونولوژی و آلرژی کودکان، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران
۱۰- دکتر فریبا ایرجی	استاد، متخصص بیماری‌های پوست، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۱- دکتر کن باست	استاد، متخصص بیماری‌های پوست، مرکز تحقیقات پوست و لیشمانیوز، کانادا
۱۲- دکتر رضا باقریان سرارودی	دانشیار، دکترای تخصصی روانشناسی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۳- دکتر مجید برکتین	استاد، متخصص روانپزشکی، فلوشیپ نوروسایکیاتری، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۴- دکتر فرزین پور فرزاد	دکترای تخصصی زیست‌شناسی سلولی و ژنتیک، دانشگاه اراسموس، روتردام، هلند
۱۵- دکتر مسعود پورمقدس	استاد، متخصص قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۶- دکتر احمد چیت‌ساز	استاد، متخصص مغز و اعصاب، فلوشیپ بیماری‌های حرکتی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۷- دکتر علی حکمت‌نیا	استاد، متخصص رادیولوژی، فلوشیپ رادیولوژی مغز و اعصاب و کودکان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۸- دکتر سید مرتضی حیدری	استاد، متخصص بیهوشی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۱۹- دکتر مجید خیراللهی	دانشیار، دکترای تخصصی ژنتیک و بیولوژی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۰- دکتر بهناز خانی	دانشیار، متخصص زنان و زایمان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۱- دکتر مریم راداحمدی	استادیار، دکترای تخصصی فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۲- دکتر حسن رزمجو	استاد، متخصص چشم، فلوشیپ ویتره و رتین، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۳- دکتر رضا روزبهانی	استادیار، متخصص پزشکی اجتماعی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۴- دکتر مسعود سهیلیان	استاد، متخصص چشم، فلوشیپ ویتره و رتین، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۲۵- دکتر محمدرضا شریفی	استاد، دکترای تخصصی فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۶- دکتر منصور شعله‌ور	استاد، متخصص قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۷- دکتر رسول صالحی	استادیار، دکترای تخصصی ژنتیک، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۸- دکتر مسیح صبوری	استاد، متخصص جراحی مغز و اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲۹- دکتر محمدرضا صفوی	دانشیار، متخصص بیهوشی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳۰- دکتر خسرو عادل	استاد، متخصص بیوشیمی بالینی، دانشگاه تورنتو، تورنتو، کانادا
۳۱- دکتر سعید عندلیب جرتانی	استاد، متخصص پاتولوژی، دانشگاه لوئیس ویل، آمریکا
۳۲- دکتر زیبا فرج‌زادگان	استاد، متخصص پزشکی اجتماعی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳۳- دکتر رویا کلیشادی	استاد، متخصص بیماری‌های کودکان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳۴- دکتر جعفر گلشاهی	دانشیار، متخصص قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳۵- دکتر عزیز گهری	استاد، متخصص بیماری‌های پوست، مرکز تحقیقات پوست و لیشمانیوز، کانادا
۳۶- دکتر پروین محزونی	استاد، متخصص آسیب‌شناسی 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	استاد، دکترای تخصصی علوم تشریحی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳۹- دکتر آتیه مغیثی	استاد، فوق تخصص غدد داخلی، مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم، آمریکا
۴۰- دکتر مرجان منصوریان	استادیار، دکترای تخصصی اپیدمیولوژی و آمار زیستی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۴۱- دکتر محمدرضا نوربخش	استاد، متخصص فیزیوتراپی، جرجیا، آمریکا
۴۲- دکتر مصطفی هاشمی	دانشیار، متخصص گوش و حلق و بینی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، ایران

## راهنمای نگارش و ارسال مقاله علمی - پژوهشی

مجله علمی- پژوهشی دانشکده پزشکی اصفهان، در SCOPUS نمایه شده و به صورت ماهنامه، 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 ۲۵-۲۰ 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 امکان پذیر 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.

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.

- دست‌نوشته‌های 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 مأخذ ۳۰ عدد می‌باشد.

ب- مقالات کوتاه پژوهشی: مقالات علمی کوتاه پژوهشی با حداکثر ۱۰۰۰ کلمه؛ سقف مجموع جداول و تصاویر ۲، سقف منابع و مأخذ 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 مسؤل). برای ارسال مقالات مروری ضروری است که حتماً از قبل با سردبیر مجله هماهنگی لازم صورت گرفته و سپس اقدام به ارسال دست‌نوشته 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 مأخذ ۵ عدد می‌باشد. نقد مقاله برای نویسنده مسؤل 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 مأخذ 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 مأخذ ۱۵ عدد می‌باشد.

تبصره ۱- مقالات ترجمه پذیرفته نمی‌شود.

تبصره ۲- ارسال دست‌نوشته 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 دست‌نوشته‌هایی 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 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 شماره گذاری شوند.

- دست‌نوشته باید شامل دو فایل: (۱) فایل Word صفحه عنوان (۲) فایل Word دست‌نوشته (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 مسؤل و تقدیر و تشکر (شامل تشکر از افراد، شماره طرح پژوهشی و یا پایان‌نامه، ذکر منابع مالی و اعتباری طرح پژوهشی) باشد. ضروری است که علاوه بر ذکر تقدیر و تشکر در صفحه عنوان، در پایان دست‌نوشته 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 منع 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 پرانتز 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 نرم‌افزارها و سیستم‌های کامپیوتری باید سال و ویرایش آن در پرانتز و پس از نام آن ذکر گردد.

در صورتی که مطالعه دارای پرسش‌نامه 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 روش‌های مورد استفاده برای تأمین پایایی پرسش‌نامه و گزارش نتایج آزمون‌های آماری به کار گرفته شده جهت تأمین پایایی توضیح داده شود. در مورد پرسش‌نامه‌های استاندارد ذکر نام و مرجع آن کافی است.

- یافته‌ها: این بخش به صورت متن همراه با جدول‌ها، شکل‌ها و نمودارها ارائه می‌گردد. در این بخش فقط یافته‌ها ارائه می‌شود و باید از ذکر دلایل و استدلال‌های 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. جدول‌ها، نمودارها و شکل‌ها هر کدام باید در یک صفحه جداگانه و پس از منابع، در پایان دست‌نوشته به ترتیب آورده شوند. همچنین باید جداول و نمودارها در فایل اصلی دست‌نوشته، علاوه بر ارجاع در متن، محل قرارگیری آنها نیز جانمایی شده باشند.

- بحث: در این بخش در ابتدا به یافته‌های مهم اساسی مطالعه و سپس تشابه و تفاوت‌های آن با یافته‌های سایر پژوهشگران در مطالعات مشابه اشاره می‌گردد. ذکر جزئیات کامل یافته‌ها در این بخش لازم نیست. تأکید بر یافته‌های 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 می‌باشد. هدف این بخش، ذکر دلیل اصلی انجام تحقیق، تحلیل و تفسیر یافته‌ها و همچنین نتیجه‌گیری کلی (Conclusion) است.

- جدول‌ها: 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 نرم‌افزار MSWord مورد قبول است. توضیحات اضافی در خصوص محتوای جداول باید به صورت پی‌نوشته و در پایین جدول باشد. جدول‌ها باید در صفحات جداگانه و در پایان دست‌نوشته (پس از منابع) قرار داده شوند. جدول‌ها باید دارای زمینه سفید و بدون سایه و ترام باشد. جداول باید توسط نرم‌افزار 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 نبوده‌اند مورد تقدیر قرار گیرند؛ از جمله کسانی که کمک‌های فنی، نوشتاری و مالی داده و همچنین سرپرستان و مدیران بخش‌های محل انجام مطالعه که در امر پشتیبانی‌های عمومی در اجرای تحقیق فعالیت داشته‌اند. همچنین ذکر نام سازمان(های) حمایت‌کننده یا تأمین‌کننده مالی پژوهش در این بخش ضروری است.

- در صورتی که دست‌نوشته حاصل از پایان‌نامه دانشجویی باشد حتماً بایستی در قسمت تقدیر و تشکر شماره پایان‌نامه مصوب دانشگاه و نیز نام دانشگاه ذکر گردد.

- تبصره ۱- ضروری است که علاوه بر ذکر تقدیر و تشکر در صفحه عنوان، در پایان دست‌نوشته 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) می‌باشد. 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 می‌گردد:

-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 (:) شماره‌ی انتشار (شماره‌ی مجله) (: شماره‌ی 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. 15<sup>th</sup> ed. New York, NY: Oxford Univ Press; 1987.

نمونه فارسی:

Azizi F, Janghorbani M, Hatami H. Epidemiology and control of common disorders in Iran. 2<sup>nd</sup> ed. Tehran, Iran: Eshtiagh 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. 6<sup>th</sup> 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 اختتامی 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](http://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 مسؤول 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 عبارات های مخفف در عنوان و خلاصه مقاله خودداری گردد.

- توضیح کامل در مورد هر کدام از عبارات 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 مسؤول ارسال نخواهد شد و شماره های مجله از طریق سایت برای نویسندگان و خوانندگان قابل دسترسی می باشد.





## فهرست مطالب

### مقاله‌های پژوهشی

۱۲۹۰..... تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی آن‌ها.....  
حمید سلگی، حمزه غفارزاده، فرشته شاهچراغی

۱۲۹۷..... بررسی مقایسه‌ای میزان موفقیت در جداسازی از دستگاه در سه روش جبران لوله‌ای به طور خودکار و تهویه‌ی حمایتی فشاری با پنج و هشت سانتی‌متر آب فشار راه هوایی.....  
پرویز کاشفی، سعید عباسی، فرزانه کتیرایی، بابک علی کیایی

۱۳۰۴..... طبقه‌بندی سلول‌های مؤثر در تشخیص سرطان میلونیدی مزمن به روش نیمه خودکار پردازش تصاویر میکروسکوپی.....  
نرجس قانع، علیرضا ورد، اردشیر طالبی، پردیس نعمت‌الهی

۱۳۱۱..... بررسی سطح سرمی ویتامین D و ارتباط آن با شدت بیماری در بیماران آرتریت روماتوئید.....  
محسن نوروزی، مهدی غلامزاده بانیس

### گزارش مورد

۱۳۱۸..... درمان لیشمانیوز جلدی مقاوم به گلوکانتیم با درمان توأم آلپورینول و تری‌کلرو استیک اسید ۵۰ درصد؛ گزارش سه مورد.....  
گیتی صادقیان، فاطمه سخنوری

## بررسی فنوتیپی و ژنوتیپی ژن‌های کارباینماز در باکتری‌های گرم منفی مقاوم به کارباینم و تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی آن‌ها

حمید سلگی<sup>۱</sup>، حمزه غفارزاده<sup>۲</sup>، فرشته شاهچراغی<sup>۳</sup>

### مقاله پژوهشی

#### چکیده

**مقدمه:** آنتی‌بیوتیک‌های کارباینم اغلب به عنوان آخرین خط درمانی برای عفونت‌های ایجاد شده توسط باکتری‌های گرم منفی مورد استفاده قرار می‌گیرند. مهم‌ترین مکانیسم مقاومت به کارباینم‌ها تولید آنزیم‌های کارباینماز می‌باشد. هدف از انجام این مطالعه، تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی و شناسایی باکتری‌های گرم منفی مولد کارباینماز در ایزوله‌های بالینی بود.

**روش‌ها:** در این مطالعه، ۱۳۴ ایزوله‌ی بالینی باکتری گرم منفی در سال‌های ۹۲-۱۳۹۱ در دو بیمارستان شهر تهران جداسازی گردید. آزمایش‌های حساسیت آنتی‌بیوتیکی با استفاده از روش دیسک دیفیوژن برای ۱۱ آنتی‌بیوتیک تعیین گردید. سپس، از دو آزمایش فنوتیپی Modified Hodge test (MHT) و Double-disk synergy test (DDST) جهت بررسی تولید ژن‌های کارباینمازها (*bla<sub>IMP-1</sub>* و *bla<sub>OXA-48</sub>*، *bla<sub>KPC</sub>*، *bla<sub>NDM</sub>*، *bla<sub>GES</sub>*، *bla<sub>SPM</sub>*، *bla<sub>VIM1,II</sub>*) استفاده گردید. ژن‌های مقاومت با استفاده از روش Polymerase chain reaction (PCR) مورد شناسایی قرار گرفتند.

**یافته‌ها:** ایزوله‌های جدا شده شامل ۵۲ ایزوله‌ی *Escherichia coli*، ۳۵ ایزوله‌ی *Klebsiella pneumoniae*، ۱۸ ایزوله‌ی *Acinetobacter baumannii*، ۱۹ ایزوله‌ی *Pseudomonas aeruginosa*، ۶ ایزوله‌ی *Citrobacter freundii*، ۲ ایزوله‌ی *Proteus mirabilis* و ۲ ایزوله‌ی *Enterobacter cloacae* بودند. در این باکتری‌ها، بیشترین میزان مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های ارتاپنم، سفوتاکسیم، سفنازیدیم، آرترونام، کاناماسین و آمیکاسین (۱۰۰ درصد) مشاهده گردید. آزمایش‌های فنوتیپی نشان داد که ۴۴ ایزوله، DDST مثبت و ۱۷ ایزوله، MHT مثبت بودند. نتایج PCR نشان داد که تنها ۴ سویه *Klebsiella pneumoniae*، *Escherichia coli*، *Citrobacter freundii* و *Acinetobacter baumannii* معادل ۲/۹ درصد از ایزوله‌های مورد بررسی، دارای ژن *bla<sub>IMP-1</sub>* بودند.

**نتیجه‌گیری:** با توجه به وجود ژن *bla<sub>IMP-1</sub>*، *Klebsiella pneumoniae*، *Escherichia coli*، *Citrobacter freundii* و *Acinetobacter baumannii* و امکان انتقال افقی این ژن‌ها به باکتری‌های دیگر و همچنین، با توجه به اهمیت این سویه‌ها در بیمارستان‌ها، شناسایی سریع این ژن‌ها می‌تواند نقش مهمی در کنترل و درمان این باکتری‌ها داشته باشد.

**واژگان کلیدی:** کارباینماز، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، باکتری‌های گرم منفی، Polymerase chain reaction

**ارجاع:** سلگی حمید، غفارزاده حمزه، شاهچراغی فرشته. بررسی فنوتیپی و ژنوتیپی ژن‌های کارباینماز در باکتری‌های گرم منفی مقاوم به کارباینم و تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی آن‌ها. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۵؛ ۳۴ (۴۰۵): ۱۲۹۶-۱۲۹۰

#### مقدمه

باکتری‌های گرم منفی، شامل گروه بزرگی از باکتری‌ها می‌باشند که به طور وسیع در طبیعت پراکنده هستند و باعث ایجاد عفونت‌های خطرناکی مانند سیستیت، پیلونفریت، پنومونی، مننژیت، سپتی‌سمی و عفونت‌های مرتبط با وسایل پزشکی می‌شوند. معرفی کارباینم‌ها به عنوان نسل جدید داروهای بتالاکتام، پیشرفت‌های زیادی را در درمان

عفونت‌های شدید باکتری‌های گرم منفی که به دیگر داروهای بتالاکتام مقاوم بودند، به ارمغان آورده است (۳-۱). بتالاکتام‌های جدید که بیانگر مقاومت به کارباینم‌ها هستند، شامل کارباینمازها می‌باشند که به تازگی، شیوع آن‌ها در حال افزایش می‌باشد. آنزیم‌های کارباینماز، از مهم‌ترین عوامل ایجاد مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام در باکتری‌های گرم منفی به حساب می‌آیند (۵-۴).

۱- دانشجوی دکتری باکتری شناسی پزشکی، بخش میکروبی‌شناسی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران

۲- کارشناس ارشد میکروبی‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات ساوه، ساوه، ایران

۳- استاد میکروبی‌شناسی، بخش میکروبی‌شناسی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران

نویسنده‌ی مسؤو: فرشته شاهچراغی

Email: shahcheraghifereshteh@yahoo.com

بررسی قرار گرفت (۵). در این مطالعه، از سویه‌ی استاندارد *Escherichia coli* ATCC ۲۵۹۲۲ به عنوان سویه‌ی شاهد استفاده گردید.

**شناسایی فنوتیپی کارباپنمازها:** Double-disk synergy test (DDST): سویه‌های مقاوم به کارباپنم، با روش DDST با استفاده از Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) به عنوان مهار کننده‌ی آنزیم‌های Metallo-beta-lactamase (MBL) به منظور بررسی تولید این آنزیم‌ها مورد مطالعه قرار گرفتند. به این صورت که از دیسک‌های ایمینیم و ایمینیم به علاوه‌ی ۵ میکرولیتر EDTA ۰/۵ مولار استفاده گردید. دیسک‌ها در محیط Mueller-Hinton agar کشت داده شده با باکتری با کدورت ۰/۵ McFarland قرار داده شدند و پس از انکوباسیون، در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد، قطر هاله‌ی عدم رشد اطراف دو دیسک اندازه‌گیری شد. افزایش هاله‌ی عدم رشد بیشتر یا مساوی ۷ میلی‌متر در حضور دیسک ایمینیم همراه با EDTA در مقایسه با دیسک ایمینیم تنها، به عنوان آزمایش مثبت برای وجود بتالاکتامازها تلقی می‌شود (۶-۷). از سویه‌ی *Klebsiella pneumoniae* AO-8053 به عنوان شاهد مثبت استفاده گردید.

**Modified Hodge test (MHT):** ابتدا از سویه‌ی استاندارد *Escherichia coli* ATCC ۲۵۹۲۲ رقت ۰/۵ McFarland در ۳ میلی‌لیتر سالین تهیه گردید. سوسپانسیون مورد نظر، به میزان ۱:۱۰ رقیق گردید و سپس، به صورت یکنواخت بر روی محیط Mueller-Hinton کشت و یک دیسک ارتاپنم نیز در مرکز پلیت قرار داده شد. سپس، باکتری‌های مورد نظر به صورت یک خط مستقیم از کناره‌ی پلیت تا لبه‌ی دیسک کشت داده شد و در نهایت، پلیت به مدت ۲۴-۱۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد انکوبه گردید. ایزوله‌ی MHT مثبت بعد از ۲۴-۱۸ ساعت به صورت یک هاله‌ی عدم رشد برگ شبدری از سویه‌ی استاندارد *Escherichia coli* ATCC ۲۵۹۲۲ مشخص می‌گردد. رشد سویه‌ی استاندارد *Escherichia coli* به سمت دیسک ارتاپنم به دلیل مهار اثر آنتی‌بیوتیک ارتاپنم، توسط باکتری‌های مولد کارباپنماز می‌باشد.

**شناسایی ژنوتیپی کارباپنمازها:** جهت استخراج DNA باکتری از روش جوشاندن (Boiling) استفاده گردید. ابتدا ۴-۳ کلنی باکتری از محیط کشت تازه برداشته شد و در ۲۰۰ میکرولیتر آب دیونیزه داخل اپندورف حل گردید و پس از ورتکس کردن، سوسپانسیون حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در بندماری جوش قرار داده شد. در نهایت، اپندورف‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۱۰۰۰۰ g سانتریفیوژ شد و از محلول رویی آنها برای انجام Polymerase chain reaction (PCR) به صورت تک استفاده گردید.

تعداد زیادی از کارباپنمازها در سال‌های اخیر شناسایی شده‌اند که به ۳ گروه A (*Klebsiella pneumoniae carbapenemase*) یا KPC و *Guiana extended-spectrum beta-lactamase* (GES) یا گروه B متالوبتالاکتامازها (*Verona integron-encoded beta-lactamase*) یا VIM، *Imipenemase* یا Sao Paulo metallo-beta-lactamases (IMP) یا *New Delhi Metallo-beta-lactamase* (NDM) یا *German imipenemase* (GIM) و گروه D بتالاکتامازها (*OXA48*) دسته‌بندی می‌شوند (۳).

این آنزیم‌ها، به طور عمده در باکتری‌های غیر تخمیری مانند *Pseudomonas aeruginosa* و *Acinetobacter baumannii* وجود دارند و همچنین، از *Enterobacteriaceae* نیز جدا می‌شوند. باکتری‌های تولید کننده‌ی متالوبتالاکتامازها، به دلیل اثر بر طیف وسیعی از آنتی‌بیوتیک‌ها نظیر پنی‌سیلین‌ها، سفالوسپورین‌های وسیع‌الطیف و کارباپنم‌ها (به استثنای مونوکتام‌ها مانند آرترونام)، از مشکلات عمده در درمان بیماری‌های عفونی به شمار می‌روند. مطالعه بر روی این آنزیم‌ها و تشخیص زودهنگام آن‌ها در بین ایزوله‌های بالینی، برای کنترل و جلوگیری از گسترش آن‌ها از اهمیت بالایی برخوردار است.

این مطالعه، با هدف تعیین میزان مقاومت *Enterobacteriaceae* ها و باکتری‌های گرم منفی غیر تخمیری جدا شده از نمونه‌های بالینی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های کارباپنم و سایر آنتی‌بیوتیک‌ها و همچنین، بررسی ژن‌های کارباپنماز در میان باکتری‌های گرم منفی مقاوم به کارباپنم از بیمارستان‌های امام حسین (ع) و لقمان حکیم انجام گرفت.

## روش‌ها

**جمع‌آوری نمونه:** در این مطالعه، تعداد ۱۳۴ ایزوله‌ی مقاوم به کارباپنم در طی ماه‌های خرداد ۱۳۹۱ تا مهر ۱۳۹۲ از بیماران بستری شده و یا مراجعه کننده به بیمارستان‌های امام حسین (ع) و لقمان حکیم جمع‌آوری و با استفاده از آزمایش‌های بیوشیمیایی تشخیص داده شدند.

**تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی:** برای بررسی مقاومت سویه‌های جدا شده نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها، از روش دیسک دیفیوژن Kirby-Bauer استفاده گردید. الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های جدا شده نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های سفپیم، سفوتاکسیم، سفتازیدیم، آرترونام، ارتاپنم، ایمینیم، مروپنم، آمیکاسین، کاناماسین، سیپروفلوکساسین، تریمتوپریم-سولفامتوکسازول (کوآتریموکسازول) (تهیه شده از شرکت MAST، انگلیس) بر اساس راهنمای مؤسسه‌ی استاندارد آزمایشگاهی و بالینی (Clinical & Laboratory Standards Institute یا CLSI) مورد

جدول ۱. پرایمرهای مورد استفاده در واکنش PCR Polymerase chain reaction (PCR) برای شناسایی کاربپنمازاها

ژن	پرایمر	توالی نوکلئوتیدی (5'to3')	اندازه (bp)	رفرنس
bla <sub>KPC</sub>	KPC-F	CTTGCTGCCGCTGTGCTG	۴۸۹	۱۷
	KPC-R	GCAGGTTCCGGTTTTGTCTC		
bla <sub>GES</sub>	GES-F	ATGCGCTTCATTACGCAC	۶۴۰	۱۸
	GES-R	CTATTTGTCCGTGCTCAGG		
bla <sub>NDM</sub>	NDM-F	ACCGCCTGGACCGATGACCA	۲۶۳	۱۹
	NDM-R	GCCAAAGTTGGGCGCGGTTG		
bla <sub>VIM1</sub>	VIM-F	AGTGGTGAGTATCCGACA	۲۶۱	۲۰
	VIM-R	ATGAAAAGTGCCTGGAGAC		
bla <sub>IMP</sub>	IMP-F	ACCGCAGCAGAGTCTTTGCC	۵۸۵	۲۰
	IMP-R	ACAACCAGTTTTGCCTTACC		
bla <sub>SPM</sub>	SPM-F	GCGTTTTGTTGTTGCTC	۷۸۶	۲۰
	SPM-R	TTGGGGATGTGAGACTAC		
bla <sub>Oxa48</sub>	OXA-F	TTGGTGGCATCGATTATCGG	۷۴۳	۲۰
	OXA-R	GAGCACTTCTTTTGTGATGGC		

جدا شده از مایع مغزی- نخاعی مشاهده گردید.

در این مطالعه، ۱۰۲ ایزوله‌ی جدا شده از بیمارستان لقمان حکیم شامل ۴۱ ایزوله‌ی *Escherichia coli*، ۲۹ ایزوله‌ی *Acinetobacter baumannii*، ۱۵ ایزوله‌ی *Klebsiella pneumoniae*، ۱۱ ایزوله‌ی *Pseudomonas aeruginosa*، ۲ ایزوله‌ی *Citrobacter freundii*، ۲ ایزوله‌ی *Proteus mirabilis*، ۲ ایزوله‌ی *Enterobacter cloacae* و ۳۲ ایزوله‌ی جدا شده از بیمارستان امام حسین (ع) شامل ۱۱ ایزوله‌ی *Escherichia coli*، ۶ ایزوله‌ی *Acinetobacter baumannii*، ۳ ایزوله‌ی *Klebsiella pneumoniae*، ۸ ایزوله‌ی *Pseudomonas aeruginosa* و ۴ ایزوله‌ی *Citrobacter freundii* مورد بررسی قرار گرفتند.

روش PCR برای شناسایی ژن‌های بتالاکتاماز در نمونه‌های مقاوم به کاربپنم که حداقل یکی از دو روش فنوتیپی MHT یا DDST مثبت گزارش گردید، با استفاده از پرایمرهای اختصاصی و شرایط موجود صورت پذیرفت (جدول‌های ۱ و ۲). پس از اتمام چرخه‌های دستگاه، ۳ میکرولیتر از آن بر روی ژل ۱/۵ درصد آگارز برده شد و نتایج آن به کمک دستگاه Gel documentation مورد ارزیابی قرار گرفت.

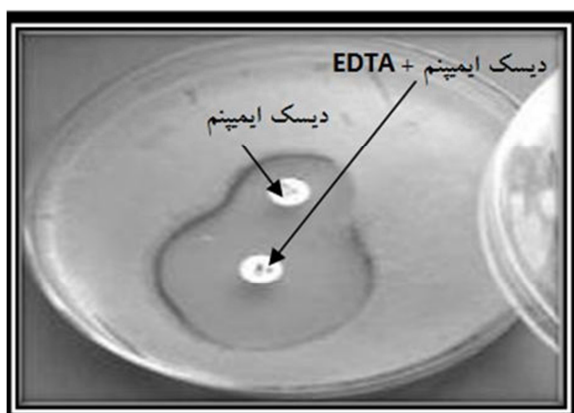
#### یافته‌ها

درصد فراوانی نسبی سویه‌های جدا شده از نمونه‌های مختلف در شکل ۱ آمده است. بیشترین موارد جدا شده از تراشه و کمترین موارد

جدول ۲. شرایط مورد استفاده برای شناسایی ژن‌های کاربپنمازاها

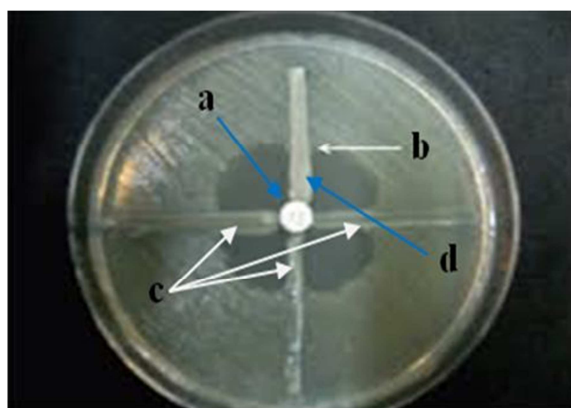
ژن	تعداد چرخه	مرحله‌ی دناتوراسیون اولیه	مرحله‌ی دناتوراسیون	مرحله‌ی اتصال	مرحله‌ی گسترش	مرحله‌ی گسترش نهایی
bla <sub>KPC</sub>	۳۰	درجه ۹۴	درجه ۹۴	درجه ۶۰	درجه ۷۲	درجه ۷۲
		۵ دقیقه	۱ دقیقه	۴۰ ثانیه	۴۵ ثانیه	۳ دقیقه
bla <sub>GES</sub>	۳۰	درجه ۹۵	درجه ۹۵	درجه ۶۰	درجه ۷۲	درجه ۷۲
		۲ دقیقه	۲ دقیقه	۳۰ ثانیه	۱ دقیقه	۵ دقیقه
bla <sub>NDM</sub>	۳۵	درجه ۹۵	درجه ۹۵	درجه ۵۹	درجه ۷۲	درجه ۷۲
		۲ دقیقه	۲ دقیقه	۳۰ ثانیه	۱ دقیقه	۱۰ دقیقه
bla <sub>VIM1</sub>	۳۰	درجه ۹۵	درجه ۹۵	درجه ۵۸	درجه ۷۲	درجه ۷۲
		۲ دقیقه	۱ دقیقه	۴۵ ثانیه	۱ دقیقه	۱۰ دقیقه
bla <sub>IMP</sub>	۳۰	درجه ۹۵	درجه ۹۵	درجه ۵۸	درجه ۷۲	درجه ۷۲
		۲ دقیقه	۱ دقیقه	۳۵ ثانیه	۱ دقیقه	۱۰ دقیقه
bla <sub>SPM</sub>	۴۰	درجه ۹۴	درجه ۹۴	درجه ۵۵	درجه ۷۲	درجه ۷۲
		۲ دقیقه	۱ دقیقه	۴۵ ثانیه	۱ دقیقه	۷ دقیقه
bla <sub>Oxa48</sub>	۳۵	درجه ۹۵	درجه ۹۵	درجه ۵۶	درجه ۷۲	درجه ۷۲
		۲ دقیقه	۱ دقیقه	۴۵ ثانیه	۱ دقیقه	۷ دقیقه

Acinetobacter baumannii از ایزوله‌های مورد بررسی دارای ژن bla<sub>IMP-1</sub> بودند.



شکل ۲. نتیجه مثبت آزمایش (DDST) Double-disk synergy test

ایزوله‌های *Escherichia coli* و *Klebsiella pneumoniae* از بیمارستان لقمان حکیم و به ترتیب از نمونه‌ی تراشه و ادرار جدا گردیدند و ایزوله‌های *Acinetobacter baumannii* و *Citrobacter freundii* از بیمارستان امام حسین (ع) به ترتیب از نمونه‌های تراشه و ادرار بیماران بستری شده جداسازی شدند؛ در حالی که تمامی سویه‌ها، فاقد ژن‌های bla<sub>GES</sub>، bla<sub>SPM</sub>، bla<sub>VIMI,II</sub>، bla<sub>OXA-48</sub> و bla<sub>KPC</sub>، bla<sub>NDM</sub> بودند. همچنین، نتایج حاصل از توالی‌یابی نیز صحت وجود ژن bla<sub>IMP-1</sub> در این ۴ سویه را تأیید کرد.

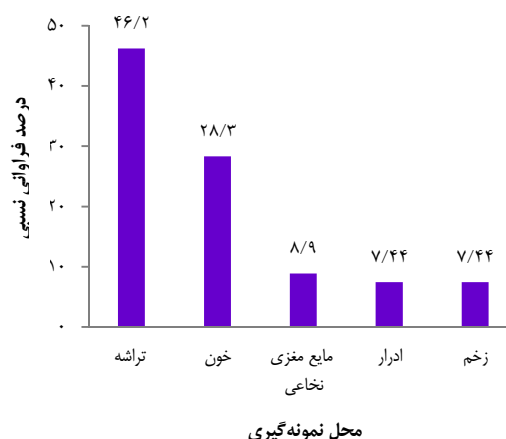


شکل ۳. روش MHT به همراه نمونه‌های مجهول و شاهد مثبت

a: دیسک ارتاپنم، b: سویه‌ی استاندارد *Escherichia coli* ATCC ۲۵۹۲۲ حساس به کاربپنماز، c: نمونه‌ی مجهول، d: شاهد مثبت (*Klebsiella pneumoniae* AO-8053)

### بحث

در این مطالعه، از ۳۲ سویه‌ی جدا شده‌ی مربوط به بیمارستان امام



شکل ۱. درصد توزیع فراوانی نسبی نمونه‌های بالینی ایزوله شده بر حسب محل نمونه‌گیری

نتایج حاصل از آنتی‌بیوگرام نشان داد که بیشترین میزان مقاومت، مربوط به آنتی‌بیوتیک‌های ارتاپنم، سفوتاکسیم، سفنازیدیم، آرترونام، آمیکاسین و کاناماسین (۱۰۰ درصد) و کمترین میزان مقاومت مربوط به ایمپینم ۸۸ درصد بود (جدول ۳).

جدول ۳. درصد مقاومت آنتی‌بیوتیکی در سویه‌های مورد بررسی در این مطالعه

ایزوله‌های مقاوم تعداد (درصد)	آنتی‌بیوتیک
۱۳۴ (۱۰۰)	سفنازیدیم
۱۳۳ (۹۹/۲)	سفپیم
۱۳۴ (۱۰۰)	سفوتاکسیم
۱۱۸ (۸۸/۰)	ایمپینم
۱۲۵ (۹۳/۲)	مروپنم
۱۳۴ (۱۰۰)	ارتاپنم
۱۲۵ (۹۳/۲)	تریمتوپریم/سولفامتوکسازول
۱۳۱ (۹۷/۷)	سپروفلوکساسین
۱۳۴ (۱۰۰)	آرترونام
۱۳۴ (۱۰۰)	آمیکاسین
۱۳۴ (۱۰۰)	کاناماسین

آزمایش‌های DDST و MHT بر روی تمام سویه‌های مقاوم به ارتاپنم انجام گرفت و به ترتیب تنها در ۴۴ و ۱۷ سویه جواب مثبت مشاهده گردید (شکل‌های ۲ و ۳).

### نتایج روش PCR

نتایج PCR نشان داد که تنها ۴ سویه‌ی *Klebsiella pneumoniae* و *Citrobacter freundii*، *Escherichia coli*

مروپنم، ۱۱ نمونه (۳/۰ درصد) مقاوم به ارتپنم و ۴ نمونه (۱/۱ درصد) مقاوم به ایمپنم بودند (۱۶). در مطالعه‌ی حاضر، ۸۸ درصد سویه‌های *Enterobacteriaceae*، *Pseudomonas aeruginosa* و *Acinetobacter baumannii* به ایمپنم مقاوم بودند که این امر، نشان دهنده‌ی افزایش مقاومت دارویی در سال‌های اخیر نسبت به کاربپنم‌ها می‌باشد.

در مطالعه‌ی عزیمسی و همکاران بر روی ۲۸ ایزوله‌ی *Klebsiella pneumoniae* مقاوم به ایمپنم، با استفاده از روش‌های MHT و CarbaNP test مشخص شد که تمام ایزوله‌ها، از لحاظ فنوتیپی مثبت می‌باشند. در این مطالعه، ۱ ایزوله‌ی VIM-4 و ۲۷ ایزوله‌ی OXA-48 مثبت با استفاده از روش مولکولی گزارش گردید، اما در مطالعه‌ی حاضر فقط ژن *bla<sub>IMP-1</sub>* مشاهده شد (۱۷).

نتیجه‌گیری نهایی این که MHT و DDST روش‌هایی آسان برای شناسایی باکتری‌های مولد کاربپنماز در *Enterobacteriaceae*‌ها و باکتری‌های غیر تخمیری مانند *Pseudomonas* و *Acinetobacter* می‌باشند. بنابراین، با توجه به نتایج به دست آمده، پیشنهاد می‌شود که برای تمامی سویه‌های ایزوله شده که با روش دیسک دیفیوژن نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های کاربپنم مقاوم یا نیمه‌حساس هستند، باید از نظر تولید آنزیم‌های کاربپنماز هم‌زمان از چندین آزمایش فنوتیپی استفاده گردد. همچنین، با توجه به اهمیت سویه‌های مولد کاربپنماز در بیمارستان‌ها، شناسایی سریع این ژن‌ها می‌تواند نقش مهمی در کنترل و درمان این باکتری‌ها داشته باشد. در نهایت، پیشنهاد می‌شود که برای شناسایی و تأیید ژن‌های کاربپنماز، از آزمایش‌های مولکولی استفاده گردد.

### تشکر و قدردانی

بدین وسیله، از تمامی کارکنان آزمایشگاه میکروبیولوژی بیمارستان‌های لقمان حکیم و امام حسین (ع) تهران جهت جمع‌آوری نمونه‌ها و همچنین، بخش میکروبیولوژی انستیتو پاستور ایران سپاسگزاری می‌گردد.

حسین (ع) ۹۶/۸ درصد و از ۱۰۲ سویه‌ی جدا شده‌ی مربوط به بیمارستان لقمان حکیم، ۸۶/۲ درصد به همه‌ی آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده مقاوم بودند. مقایسه‌ی نتایج به دست آمده در این مطالعه با مطالعات قبلی، نشان از افزایش میزان مقاومت این باکتری‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف از سوش‌های جدا شده از بیماران مراجعه کننده به بیمارستان می‌باشد (۱۳-۸).

در بین کاربپنمازها، آنزیم‌های متالوبتالاکتامازها شیوع بیشتری در سراسر جهان دارند (۱۵-۴). بنابراین، شناسایی آزمایشگاهی این آنزیم‌ها، می‌تواند نقش بسیار مهمی در درمان بیماران عفونی با باکتری‌های مولد این آنزیم‌ها داشته باشد. روش MHT و DDST، دو روش فنوتیپی برای شناسایی کاربپنمازها می‌باشند که هر دو روش، به آسانی در آزمایشگاه قابل استفاده می‌باشند. از مزیت‌های مهم دیگر روش MHT، می‌توان به شناسایی آنزیم‌های گروه A و گروه B متالوبتالاکتامازها و همچنین امکان آزمایش چندین سویه بر روی یک پلیت اشاره نمود.

از بین سویه‌های مقاوم به کاربپنم‌ها، ۴۴ سویه و ۱۷ سویه به ترتیب DDST نسبت به مهار کننده‌ی EDTA و MHT مثبت بودند که نشان می‌داد این سویه‌ها، از نظر فنوتیپی دارای آنزیم کاربپنماز می‌باشند. در بقیه‌ی سویه‌ها، نتایج MHT و DDST منفی بود که نشان دهنده‌ی آن است که مقاومت نسبت به کاربپنم‌ها در این سویه‌ها، به علت مکانیسم‌های دیگری نظیر Efflux pomp و تغییر در نفوذ پذیری غشا می‌باشد.

در مطالعه‌ی حاضر، نتایج PCR نشان داد که تنها ۴ سویه‌ی *Escherichia coli*، *Klebsiella pneumoniae* و *Citrobacter freundii* که حداقل توسط یکی از دو روش فنوتیپی MHT و DDST از لحاظ وجود ژن‌های کاربپنماز مورد تأیید قرار گرفته بودند، دارای ژن *bla<sub>IMP-1</sub>* بودند؛ در حالی که سایر ژن‌های کاربپنماز در هیچ کدام از ایزوله‌ها یافت نگردید. در مطالعه‌ی شاهچراغی و همکاران در بیمارستان‌های تهران بر روی *Enterobacteriaceae*‌ها، تعداد ۲۳ نمونه (۶/۳ درصد) مقاوم به

### References

- Bell BG, Schellevis F, Stobberingh E, Goossens H, Pringle M. A systematic review and meta-analysis of the effects of antibiotic consumption on antibiotic resistance. *BMC Infect Dis* 2014; 14: 13.
- Bush K, Jacoby GA. Updated functional classification of beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 2010; 54(3): 969-76.
- Nordmann P, Dortet L, Poirel L. Carbapenem resistance in Enterobacteriaceae: here is the storm! *Trends Mol Med* 2012; 18(5): 263-72.
- Blair JM, Webber MA, Baylay AJ, Ogbolu DO, Piddock LJ. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nat Rev Microbiol* 2015; 13(1): 42-51.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Approved standard M2-A9. 9<sup>th</sup> ed. Wayne PA; CLSI: 2006.
- Saito R, Koyano S, Dorin M, Higurashi Y, Misawa Y, Nagano N, et al. Evaluation of a simple phenotypic method for the detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *J Microbiol Methods* 2015; 108: 45-8.

7. Mochon AB, Garner OB, Hindler JA, Krogstad P, Ward KW, Lewinski MA, et al. New Delhi metallo-beta-lactamase (NDM-1)-producing *Klebsiella pneumoniae*: case report and laboratory detection strategies. *J Clin Microbiol* 2011; 49(4): 1667-70.
8. Salabi AE, Toleman MA, Weeks J, Bruderer T, Frei R, Walsh TR. First report of the metallo-beta-lactamase SPM-1 in Europe. *Antimicrob Agents Chemother* 2010; 54(1): 582.
9. Shahcheraghi F, Abbasalipour M, Feizabadi M, Ebrahimipour G, Akbari N. Isolation and genetic characterization of metallo-beta-lactamase and carbapenemase producing strains of *Acinetobacter baumannii* from patients at Tehran hospitals. *Iran J Microbiol* 2011; 3(2): 68-74.
10. Shahcheraghi F, Nobari S, Rahmati GF, Nasiri S, Owlia P, Nikbin VS, et al. First report of New Delhi metallo-beta-lactamase-1-producing *Klebsiella pneumoniae* in Iran. *Microb Drug Resist* 2013; 19(1): 30-6.
11. Osano E, Arakawa Y, Wacharotayankun R, Ohta M, Horii T, Ito H, et al. Molecular characterization of an enterobacterial metallo beta-lactamase found in a clinical isolate of *Serratia marcescens* that shows imipenem resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 1994; 38(1): 71-8.
12. Yousefi S, Farajnia S, Nahaei MR, Akhi MT, Ghotaslou R, Soroush MH, et al. Detection of metallo-beta-lactamase-encoding genes among clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* in northwest of Iran. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2010; 68(3): 322-5.
13. Feizabadi MM, Fathollahzadeh B, Taherikalani M, Rasoolinejad M, Sadeghifard N, Aligholi M, et al. Antimicrobial susceptibility patterns and distribution of blaOXA genes among *Acinetobacter* spp. Isolated from patients at Tehran hospitals. *Jpn J Infect Dis* 2008; 61(4): 274-8.
14. Pena I, Picazo JJ, Rodriguez-Avial C, Rodriguez-Avial I. Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in a tertiary hospital in Madrid, Spain: high percentage of colistin resistance among VIM-1-producing *Klebsiella pneumoniae* ST11 isolates. *Int J Antimicrob Agents* 2014; 43(5): 460-4.
15. Tangden T, Giske CG. Global dissemination of extensively drug-resistant carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: clinical perspectives on detection, treatment and infection control. *J Intern Med* 2015; 277(5): 501-12.
16. Tenover FC, Kalsi RK, Williams PP, Carey RB, Stocker S, Lonsway D, et al. Carbapenem resistance in *Klebsiella pneumoniae* not detected by automated susceptibility testing. *Emerg Infect Dis* 2006; 12(8): 1209-13.
17. Azimi L, Nordmann P, Lari AR, Bonnin RA. First report of OXA-48-producing *Klebsiella pneumoniae* strains in Iran. *GMS Hyg Infect Control* 2014; 9(1): Doc07.

## Evaluation of Phenotypic and Genotypic Carbapenemase Genes in Gram-Negative Bacteria Resistant to Carbapenem and Determining their Antibiotic Resistance

Hamid Solgi<sup>1</sup>, Hamzeh Ghafarzadeh<sup>2</sup>, Fereshteh Shahcheraghi<sup>3</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** Carbapenem antibiotics are often used as the last line of treatment for infections caused by resistant Gram-negative bacteria (GNB). The most important mechanism of resistance to carbapenems is production of carbapenemase. The prevalence of carbapenem-resistant Gram-negative bacteria is on the rise worldwide, posing a major public health threat. The aim of this study was to determine the antibiotic resistance patterns and to detect carbapenemase producing Gram-negative bacteria in clinical isolates.

**Methods:** In this study, a total of 134 clinical isolates of Gram-negative bacteria were collected in Tehran city, Iran, during 2012-2013. Antimicrobial susceptibility testing was performed and resistance genes were characterized using polymerase chain reaction (PCR) amplification and sequencing. The modified Hodge test (MHT) and ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) double-disk diffusion test (DDST) were performed for the screening carbapenemases.

**Findings:** The number and frequency of isolated bacteria were as *Escherichia coli* 57 (42.5%), *Klebsiella pneumoniae* 26 (19.4%), *Acinetobacter* spp 21 (15.6%), *Pseudomonas aeruginosa* 17 (12.6%), *Citrobacter* spp 8 (5.9%), *Proteus* spp 3 (2.2%), and *Enterobacter* spp 2 (1.4%). These organisms showed the highest resistance to ertapenem, cefotaxime, aztreonam, ceftazidime, amikacin and kanamycin (100%). Confirmatory tests showed that 44 isolates (32.8%) were DDST positive and 17 isolates (12.6%) were MHT positive. Most of MHT-positive (41.17%) and DDST-positive (39.13%) isolates were *Acinetobacter* spp. The PCR based screening revealed the presence of the bla<sub>IMP-1</sub> gene in 4 isolates.

**Conclusion:** Owing to the presentation of bla<sub>IMP-1</sub> gene in *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Acinetobacter* and *Escherichia coli* and feasibility of horizontal gene transfer among bacteria, changing in antibiotic prescription policies is required. Due to the importance of Metallo beta lactamase producing strains in hospital, early identification could play an effective role in prevention and treatment of these isolates.

**Keywords:** Carbapenemas, Antibiotic resistance, Gram negative bacteria, Polymerase chain reaction (PCR)

**Citation:** Solgi H, Ghafarzadeh H, Shahcheraghi F. Evaluation of Phenotypic and Genotypic Carbapenemase Genes in Gram-Negative Bacteria Resistant to Carbapenem and Determining their Antibiotic Resistance. J Isfahan Med Sch 2017; 34(405): 1290-6.

1- PhD Student, Department of Medical Bacteriology, Division of Microbiology, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran

2- Department of Microbiology, Saveh Research and Science Branch, Islamic Azad University, Saveh, Iran

3- Professor, Department of Microbiology, Division of Microbiology, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran

**Corresponding Author:** Fereshteh Shahcheraghi, Email: shahcheraghifereshteh@yahoo.com



## بررسی مقایسه‌ای میزان موفقیت در جداسازی از دستگاه در سه روش جبران لوله‌ای به طور خودکار و تهویه‌ی حمایتی فشاری با پنج و هشت سانتی‌متر آب فشار راه هوایی

پرویز کاشفی<sup>۱</sup>، سعید عباسی<sup>۲</sup>، فرزانه کتیرایی<sup>۳</sup>، بابک علی‌کیایی<sup>۴</sup>

### مقاله پژوهشی

### چکیده

**مقدمه:** این مطالعه با هدف مقایسه‌ی سه روش جبران لوله‌ای خودکار و تهویه‌ی حمایتی فشاری با پنج و هشت سانتی‌متر آب فشار راه هوایی به انجام رسید. **روش‌ها:** در یک مطالعه‌ی کارآزمایی بالینی، ۱۰۵ بیمار بستری در بخش مراقبت‌های ویژه که نیاز به ونتیلاسیون داشتند، در ۳ گروه ۳۵ نفره توزیع شدند. گروه اول، تحت ونتیلاسیون با حالت جبران لوله‌ای به طور خودکار، گروه دوم تحت ونتیلاسیون با حالت تهویه‌ی حمایتی فشاری با پنج سانتی‌متر آب و گروه سوم تحت ونتیلاسیون با حالت تهویه‌ی حمایتی فشاری با هشت سانتی‌متر آب قرار گرفتند. موفقیت در جداسازی و زمان جداسازی از دستگاه در سه گروه مقایسه شد. **یافته‌ها:** موفقیت در جداسازی بیمار از دستگاه ونتیلاتور در سه گروه تحت ونتیلاسیون با حالت جبران لوله‌ای خودکار، تهویه‌ی حمایتی فشاری با پنج سانتی‌متر و هشت سانتی‌متر آب به ترتیب ۸۸/۶، ۵۷/۱ و ۸۵/۷ درصد بود و اختلاف سه گروه معنی‌دار بود ( $P = ۰/۰۰۲$ ). **نتیجه‌گیری:** موفقیت در جداسازی از دستگاه در بیمارانی که تحت حالت جبران لوله‌ای به طور خودکار تحت تهویه‌ی مکانیکی قرار گرفته بودند، بالاتر بود. از این رو، انتخاب این حالت در بیماران نیازمند تهویه‌ی مکانیکی، برتری دارد. **واژگان کلیدی:** تهویه‌ی مکانیکی، جبران لوله‌ای خودکار، تهویه‌ی حمایتی فشاری

**ارجاع:** پرویز کاشفی، عباسی سعید، کتیرایی فرزانه، علی‌کیایی بابک. بررسی مقایسه‌ای میزان موفقیت در جداسازی از دستگاه در سه روش جبران لوله‌ای به طور خودکار و تهویه‌ی حمایتی فشاری با پنج و هشت سانتی‌متر آب فشار راه هوایی. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۵؛ ۳۴ (۴۰۵): ۱۳۰۳-۱۲۹۷

### مقدمه

در دهه‌ی اخیر، مدت زمان ونتیلاسیون، موضوع بحث مقالات و مجامع علمی قرار گرفته است؛ به طوری که در حال حاضر، اکستوباسیون زود، یک پدیده‌ی طبیعی است م‌ محرز شده است که با کاهش زمان نیاز به تهویه‌ی مکانیکی، می‌توان از اثرات منفی به نحو مؤثری کاست؛ به طوری که پیشرفت در راحتی بیماران، کاهش عوارض تنفسی، سهولت در کنترل و اداره‌ی بیماران، صرفه‌جویی در هزینه‌ها، کاهش زمان زمان بستری بیمار و تسهیل در انجام فعالیت‌ها، از دیگر فواید اکستوباسیون سریع می‌باشد (۳-۲). علاوه بر اثرات مفید بالینی، فواید اقتصادی اکستوباسیون زود را نیز نباید از نظر دور داشت (۴). در عین حال، احتمال می‌رود تکنیک‌های اکستوباسیون، نوع حالت دستگاه و متغیرهای مربوط به پرسنل و پزشک نیز در این امر دخیل باشند.

کاهش قابل ملاحظه‌ی مرگ و میر در سال‌های اخیر، مدیون پیشرفت‌های مختلف در امر مراقبت از بیماران بدحال و به شدت بدحال از جمله طراحی ونتیلاتورهای جدید جهت رفع نیازهای خاص تهویه‌ای در بیماران دچار مشکلات تنفسی می‌باشد. به تازگی، تغییرات زیادی در مراقبت از بیماران تحت مراقبت‌های ویژه نظیر تدارک روش‌های جدید بیهوشی و تکنیک‌های خاص تهویه‌ی تنفسی (حالت‌های تنفسی مناسب برای جداسازی سریع) اتفاق افتاده است که این روش‌ها، به نوعی بر زمان ایتوباسیون، کاهش طول مدت اقامت در بخش مراقبت‌های ویژه، کاهش نیاز به آرام‌بخش و همچنین، کاهش عوارض و نیز هزینه‌ها اثر داشته‌اند (۱).

- ۱- استاد، مرکز تحقیقات بیهوشی و مراقبت‌های ویژه و گروه بیهوشی و مراقبت‌های ویژه، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
- ۲- دانشیار، مرکز تحقیقات بیهوشی و مراقبت‌های ویژه و گروه بیهوشی و مراقبت‌های ویژه، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
- ۳- دستیار، گروه بیهوشی و مراقبت‌های ویژه، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
- ۴- استادیار، مرکز تحقیقات بیهوشی و مراقبت‌های ویژه و گروه بیهوشی و مراقبت‌های ویژه، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

Email: alikiiaib@med.mui.ac.ir

نویسنده‌ی مسؤو: بابک علی‌کیایی

آزمون ۸۰ درصد، انحراف معیار نمره‌ی آرام‌بخشی که حدود ۱/۱۷ برآورد شد و حداقل تفاوت معنی‌دار در نمره‌ی آرام‌بخشی در گروه‌های مورد مطالعه که به میزان ۰/۸ در نظر گرفته شد، به تعداد ۳۴ بیمار در هر گروه تعیین شد که جهت اطمینان بیشتر، ۳۵ بیمار در هر گروه مورد مطالعه قرار گرفتند.

روش کار بدین صورت بود که بعد از تأیید طرح و اخذ موافقت از کمیته‌ی اخلاق پزشکی دانشگاه، ۱۰۵ بیمار که شرایط ورود به مطالعه را داشتند، انتخاب و به روش تخصیص تصادفی به ۳ گروه ۳۵ نفره تقسیم شدند. همه‌ی بیماران با استفاده از دستگاه ونتیلاتور رافائل تهویه شدند. پارامترهای دستگاه ونتیلاتور توسط فرد دیگری برای گروه اول بعد از جداسازی، روی حالت تهویه‌ی حمایتی فشاری با  $PS = 5$  (Pressure support) و گروه دوم روی حالت تهویه‌ی حمایتی فشاری با  $PS = 8$  و گروه سوم تحت حالت ACT تنظیم شدند. مراقبت و پایش بیماران شامل پالس‌اکسی‌متری و مراقبت و پایش قلبی، به صورت روزانه در هر سه گروه چک شد.

آرام‌بخشی بیماران در بخش مراقبت‌های ویژه با بولوز مرفین ۲ میلی‌گرم وریدی و بولوز میدازولام ۲ میلی‌گرم وریدی و سپس، به صورت مرفین ۲ میلی‌گرم وریدی در صورت لزوم و میدازولام ۲ میلی‌گرم وریدی در صورت انجام شد. در طول زمان ونتیلاسیون، گازهای خون شریانی بدو ورود و سپس، هر ۱۲ ساعت ارزیابی و ثبت شد. همچنین، پارامترهای تنفسی شامل تعداد تنفس، حجم جاری تنفسی، معیار Rapid shallow index (RSI) و زمان تهویه‌ی مکانیکی بررسی و ثبت شد. سطح آرام‌بخشی بیماران با نمره‌ی رامسی به صورت روزانه اندازه‌گیری و ثبت گردید.

داده‌های مطالعه بعد از جمع‌آوری وارد رایانه شد و با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۳ (version 23, SPSS Inc., Chicago, IL) و استفاده از آزمون‌های آماری  $\chi^2$ ، One-way ANOVA، Repeated measures ANOVA و نیز آزمون Kruskal-Wallis مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

### یافته‌ها

در این مطالعه، ۱۰۵ بیمار بستری در بخش مراقبت‌های ویژه در سه گروه ۳۵ نفره توزیع شدند و سه گروه به ترتیب تحت ونتیلاسیون با سه روش ATC، PSV5 و PSV8 قرار گرفتند. میانگین سه گروه پیش‌گفته، به ترتیب  $14/5 \pm 52/6$ ،  $19/1 \pm 57/6$  و  $18/9 \pm 55/3$  سال بود و اختلاف معنی‌داری بین سه گروه دیده نشد ( $P = 0/490$ ). در این سه گروه، به ترتیب ۲۰ نفر (۵۷/۱ درصد)، ۲۴ نفر (۶۸/۶ درصد) و ۲۸ نفر (۸۰/۰ درصد) مرد بودند. برابر نتایج به دست آمده، فشار خون متوسط شریانی در بین دو

با وجود فواید اکستوباسیون زود، در کشور ایران هنوز در بسیاری از مراکز جراحی، بیماران با وجود دستیابی به معیارهای بالینی اکستوباسیون و بدون این که از نظر تنفسی نیاز به ونتیلاتور داشته باشند، ساعات طولانی تحت تهویه‌ی مکانیکی باقی می‌مانند. بنابراین، به نظر می‌رسد شاید بتوان با تعیین برخی متغیرهای مرتبط با زمان اکستوباسیون و انتخاب روش مفید تهویه، کمک مؤثری به بیماران بستری در بخش مراقبت‌های ویژه ارائه داد.

در حال حاضر، روش‌های مختلفی برای اکستوباسیون بیماران وجود دارد که از این روش‌ها می‌توان به روش تهویه‌ی حمایتی فشاری (Pressure support ventilation یا PSV) و جبران لوله‌ای به طور خودکار (Automatic compensation tube یا ACT) اشاره نمود. در روش تهویه‌ی حمایتی فشاری، بیمارانی که تلاش تنفس طبیعی دارند، اما نمی‌توانند تهویه‌ی دقیقه‌ای کافی داشته باشند، تحت این حالت قرار می‌گیرند که در آن، دستگاه بدون توجه به تلاش تنفسی بیمار، حمایت فشاری را حین دم ارائه می‌کند (۵). روش ACT، روشی است که به تازگی جهت ونتیلاسیون پیشنهاد شده است. این حالت، جزء یکی از حالت‌های پیشرفته است و برای غلبه بر مقاومت موجود در راه هوایی مصنوعی که در حین تنفس خود به خودی و موقع جداسازی شرایط را برای بیمار مشکل‌تر می‌کند، طراحی شده است (۸-۶).

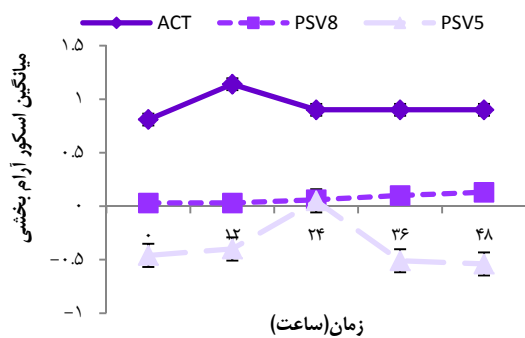
در این روش، مقاومت موجود در لوله‌های تنفس مصنوعی به طور کامل حذف می‌شود، اما در خصوص موفقیت جداسازی تحت این معیار تا کنون مطالعه‌ی داخلی انجام نشده است. از این رو، مطالعه‌ی حاضر با هدف مقایسه‌ی خارج کردن موفق لوله‌ی تراشه با سه روش ACT و تهویه‌ی حمایتی فشاری با پنج و هشت سانتی‌متر آب فشار راه هوایی در بیمارستان الزهرای (س) اصفهان در سال ۱۳۹۴ به انجام رسید.

### روش‌ها

این مطالعه، یک مطالعه‌ی کارآزمایی بالینی بود که در سال ۱۳۹۴ در مرکز آموزشی-درمانی الزهرای (س) اصفهان به انجام رسید.

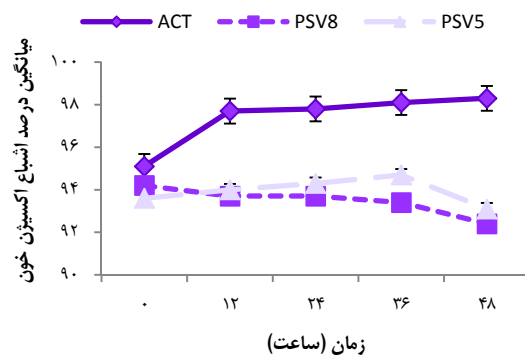
معیارهای ورود به مطالعه، شامل بیماران بستری در بخش مراقبت‌های ویژه‌ی بیمارستان الزهرای (س) اصفهان در سال ۱۳۹۴، نیازمند به ونتیلاسیون و موافقت همراهان بیمار برای شرکت بیمار در مطالعه بود. همچنین، مقرر شد در صورت فوت بیمار قبل از اتمام مطالعه یا خروج بیمار از بخش مراقبت‌های ویژه به علل مختلف مانند ترخیص با رضایت شخصی، بیمار از مطالعه خارج گردد.

حجم نمونه با استفاده از فرمول پرآورد حجم نمونه جهت مقایسه‌ی میانگین‌ها و با در نظر گرفتن سطح اطمینان ۹۵ درصد، توان



شکل ۳. میانگین نمره‌ی آرام‌بخشی از بدو شروع تهویه‌ی مکانیکی تا ۴۸ ساعت بعد در سه گروه ( $P = 0/001$ )

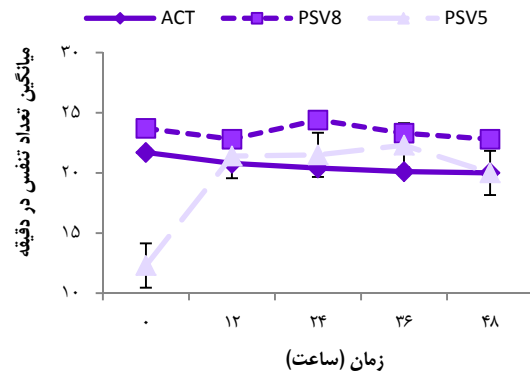
در جدول ۱، میانگین و انحراف معیار سطح گازهای خونی در سه گروه مورد مطالعه آمده است. بر حسب آزمون One-way ANOVA.  $PaO_2$  (میانگین فشار اکسیژن شریانی) در بدو شروع ونتیلاسیون در سه گروه اختلاف معنی‌داری داشت ( $P = 0/013$ )، اما در بقیه‌ی زمان‌ها اختلاف معنی‌داری بین سه گروه دیده نشد.  $PaCO_2$  (میانگین فشار دی‌اکسید کربن شریانی) نیز از بدو شروع ونتیلاسیون تا ۲۴ ساعت بعد، بین سه گروه اختلاف معنی‌داری داشت و در گروه ACT بالاتر بود. شاخص Base excess (BE) در تمامی زمان‌ها بین سه گروه اختلاف معنی‌دار داشت و میانگین آن در گروه ACT بالاتر بود. pH خون در هیچ یک از زمان‌ها بین سه گروه اختلاف معنی‌داری نداشت. انجام آزمون Repeated measures ANOVA نیز نشان داد که تغییرات سطح  $PaCO_2$  و BE در بین سه گروه اختلاف معنی‌داری داشت.



شکل ۴. میانگین درصد اشباع اکسیژن خون از بدو شروع تهویه‌ی مکانیکی تا ۴۸ ساعت بعد در سه گروه ( $P < 0/001$ )

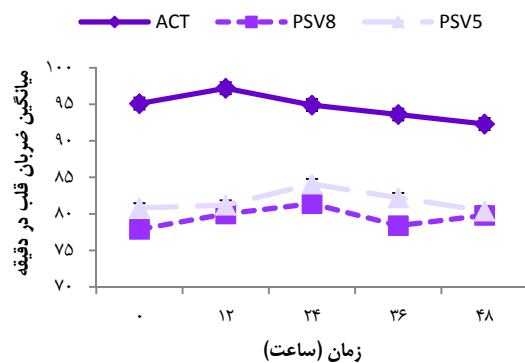
میانگین شاخص RSI در سه گروه ACT، PSV8 و PSV5 به ترتیب  $88/3 \pm 19/4$ ،  $47/7 \pm 6/6$  و  $42/8 \pm 10/5$  و میانگین این شاخص در گروه ACT به طور معنی‌داری بالاتر بود ( $P < 0/001$ ).

گروه اختلاف معنی‌داری نداشت، اما بر اساس شکل ۱، تعداد تنفس بیماران در ساعات ۲۴ ( $P < 0/001$ )، ۳۶ ( $P = 0/002$ ) و ۴۸ ( $P = 0/001$ ) بین سه گروه اختلاف معنی‌داری داشت و گروه ACT، از میانگین فشار خون پایین‌تری برخوردار بود.



شکل ۱. میانگین تعداد تنفس از بدو شروع تهویه‌ی مکانیکی تا ۴۸ ساعت بعد در سه گروه ( $P = 0/001$ )

بر اساس شکل ۲، میانگین ضربان قلب نیز در تمامی زمان‌ها در بین سه گروه اختلاف معنی‌داری داشت ( $P < 0/001$ ) و ضربان قلب در گروه ACT بالاتر بود.



شکل ۲. میانگین ضربان قلب از بدو شروع تهویه‌ی مکانیکی تا ۴۸ ساعت بعد در سه گروه ( $P < 0/001$ )

بر اساس شکل ۳، میانگین نمره‌ی آرام‌بخشی در تمامی زمان‌ها در گروه ACT به طور معنی‌داری بالاتر بود. همچنین، بر اساس شکل ۴، بیماران این گروه، از درصد اشباع اکسیژن بالاتری برخوردار بودند. انجام آزمون Repeated measures ANOVA نشان داد که تغییرات هر ۴ پارامتر پیش‌گفته در طی مدت مطالعه در بین سه گروه اختلاف معنی‌داری داشت.

جدول ۱. میانگین و انحراف معیار سطح گازهای خونی در سه گروه

مقدار P1	مقدار P1	گروه			زمان	متغیر
		روش تهویه حمایتی فشاری با PS = ۵	روش تهویه حمایتی فشاری با PS = ۸	جبران لوله‌ای خودکار		
۰/۱۱۰	۰/۱۳	۷۱/۸ ± ۲۶/۴	۸۵/۹ ± ۲۹/۹	۷۰/۶ ± ۹/۵	صفر	PaO <sub>2</sub>
	۰/۱۰۰	۷۵/۵ ± ۲۲/۶	۸۰/۳ ± ۲۱/۰	۷۰/۸ ± ۸/۴	۱۲	
	۰/۱۴۰	۷۲/۸ ± ۱۸/۱	۷۷/۵ ± ۲۲/۹	۷۲/۱ ± ۶/۱	۲۴	
	۰/۹۹۰	۷۳/۸ ± ۲۳/۸	۷۴/۱ ± ۱۸/۱	۷۳/۵ ± ۶/۵	۳۶	
	۰/۶۳۰	۷۱/۹ ± ۲۶/۳	۷۶/۴ ± ۲۱/۲	۷۳/۶ ± ۶/۵	۴۸	
۰/۰۰۱	۰/۰۰۷	۳۶/۷ ± ۹/۹	۳۶/۹ ± ۵/۴	۴۱/۳ ± ۳/۵	صفر	PaCO <sub>2</sub>
	< ۰/۰۰۱	۳۳/۴ ± ۸/۲	۳۷/۲ ± ۵/۸	۴۱/۰ ± ۲/۵	۱۲	
	< ۰/۰۰۱	۳۹/۳ ± ۱۳/۳	۳۷/۵ ± ۴/۰	۳۹/۸ ± ۲/۱	۲۴	
	۰/۴۹۰	۳۹/۳ ± ۱۳/۳	۳۷/۵ ± ۴/۰	۳۹/۸ ± ۲/۱	۳۶	
	۰/۴۸۰	۳۶/۸ ± ۱۲/۵	۳۷/۳ ± ۵/۶	۳۹/۰ ± ۱/۹	۴۸	
< ۰/۰۰۱	< ۰/۰۰۱	-۲/۵ ± ۳/۴	-۱/۰ ± ۳/۷	۳/۰ ± ۱/۷	صفر	BE
	< ۰/۰۰۱	-۲/۵ ± ۲/۴	-۱/۰ ± ۴/۰	۲/۳ ± ۱/۴	۱۲	
	< ۰/۰۰۱	-۲/۰ ± ۲/۶	-۱/۰ ± ۳/۹	۱/۹ ± ۱/۲	۲۴	
	< ۰/۰۰۱	-۲/۳ ± ۲/۱	-۱/۱ ± ۲/۹	۱/۹ ± ۰/۹	۳۶	
	< ۰/۰۰۱	-۲/۰ ± ۲/۸	-۱/۲ ± ۴/۱	۱/۴ ± ۰/۹	۴۸	
۰/۹۲۰	۰/۷۱۰	۷/۴۲ ± ۰/۱	۷/۴ ± ۰/۰	۷/۴ ± ۰/۰	صفر	pH
	۰/۵۱۰	۸/۳ ± ۰/۵	۷/۴ ± ۰/۰	۷/۳ ± ۰/۵	۱۲	
	۰/۷۸۰	۷/۳ ± ۰/۴	۷/۲ ± ۱/۳	۷/۳ ± ۰/۵	۲۴	
	۰/۴۸۰	۷/۳ ± ۰/۵	۷/۴ ± ۰/۰	۷/۳ ± ۰/۵	۳۶	
	۰/۳۰۰	۷/۳ ± ۰/۵	۷/۴ ± ۰/۰	۷/۴ ± ۰/۰	۴۸	

PaO<sub>2</sub>: میانگین فشار اکسیژن شریانی؛ PaCO<sub>2</sub>: میانگین فشار دی‌اکسید کربن شریانی؛

BE: Base excess; PS: Pressure support

P1: اختلاف میانگین بین سه گروه در هر فاصله‌ی زمانی بر حسب آزمون One-way ANOVA  
P2: میانگین تغییرات گازهای خونی بین سه گروه بر حسب آزمون Repeated measures ANOVA

بین سه گروه مشاهده نشد ( $P = ۰/۴۹۰$ ). میانگین مدت زمان اقامت در بخش مراقبت‌های ویژه نیز در سه گروه پیش‌گفته به ترتیب  $۱۱/۵ \pm ۵/۰$ ،  $۱۰/۳ \pm ۱۴/۳$  و  $۷/۸ \pm ۷/۵$  روز بود و اختلاف معنی‌دار آماری بین سه گروه وجود داشت ( $P = ۰/۰۰۳$ ). نتایج در جدول ۲ آمده است.

میزان موفقیت در جداسازی بیمار از دستگاه ونتیلاتور در سه گروه ACT، PSV8 و PSV5 به ترتیب  $۸۸/۶$ ،  $۵۷/۱$  و  $۸۵/۷$  درصد و طبق آزمون  $\chi^2$ ، اختلاف سه گروه معنی‌دار بود ( $P = ۰/۰۰۲$ ). میانگین زمان جداسازی از دستگاه نیز در سه این گروه به ترتیب  $۳/۷ \pm ۶/۹$ ،  $۸/۹ \pm ۱۰/۶$  و  $۷/۱ \pm ۱۰/۶$  روز بود و اختلاف معنی‌داری

جدول ۲. میانگین RSI، زمان جداسازی، مدت اقامت در ICU (Intensive care unit) و میزان موفقیت در جداسازی از ونتیلاتور در سه گروه

مقدار P	گروه			متغیر
	روش تهویه حمایتی فشاری با PS = ۵	روش تهویه حمایتی فشاری با PS = ۸	جبران لوله‌ای خودکار	
< ۰/۰۰۱	۴۲/۸ ± ۱۰/۵	۴۷/۷ ± ۶/۶	۸۸/۳ ± ۱۹/۴	میانگین RSI
۰/۰۰۲	۳۰ (۸۵/۷)	۲۰ (۵۷/۱)	۳۱ (۸۸/۶)	موفقیت در جداسازی
۰/۴۹۰	۷/۱ ± ۱۰/۶	۸/۹ ± ۶/۴	۶/۹ ± ۳/۷	میانگین زمان جداسازی
۰/۰۰۳	۷/۸ ± ۷/۵	۱۴/۳ ± ۱۰/۳	۱۱/۵ ± ۵/۰	مدت اقامت در بخش مراقبت‌های ویژه

RSI: Rapid shallow index; PS: Pressure support

## بحث

هدف کلی از انجام این مطالعه، مقایسه‌ی سه روش ونتیلاسیون بر میزان موفقیت جداسازی بیمار از دستگاه ونتیلاتور بود. برابر نتایج مطالعه ما، سه گروه تحت ونتیلاسیون با حالت ACT، PSV8 و PSV5 از توزیع سنی و جنسی مشابهی برخوردار بود و اثر مخدوش کننده‌ای از این عوامل بر روی متغیرهای مورد بررسی دیده نشد.

برابر نتایج مطالعه‌ی حاضر، در طی ۴۸ ساعت بررسی، همودینامیک بیماران در گروه تحت ونتیلاسیون با حالت ACT از ثبات بیشتری برخوردار بود و بیماران این گروه از فشار خون و ضربان قلب، نمره‌ی آرام‌بخشی و درصد اشباع اکسیژن بالاتری نسبت به دو حالت دیگر برخوردار بودند. از طرف دیگر، سطح  $\text{PaCO}_2$  و BE نیز در گروه ACT بالاتر از حالت‌های تهویه‌ی حمایتی فشاری بود و هر چند که مدت زمان جداسازی از دستگاه نیز در این گروه کمتر بود، اما اختلاف بین سه گروه معنی‌دار نبود. به علاوه، بیماران تحت تهویه‌ی مکانیکی با حالت ACT، مدت زمان کمتری در بخش مراقبت‌های ویژه بستری بودند. برابر نتایج مطالعه‌ی حاضر، میزان موفقیت در جداسازی بیماران از دستگاه ونتیلاتور در گروه تحت ونتیلاسیون با حالت ACT به طور قابل ملاحظه و معنی‌داری بیشتر از دو حالت دیگر بود و همچنین، این گروه از میانگین RSI بالاتری نیز برخوردار بود.

مطالعه‌ی Selek و همکاران نشان داد که روش ACT در مقایسه با روش T-piece با موفقیت بیشتری در جداسازی بیماران از دستگاه همراه بوده است (۹). در مطالعه‌ی El-Beleidy و همکاران نیز میزان موفقیت در اکتوباسیون در روش ACT به طور معنی‌داری بیشتر از روش تهویه‌ی حمایتی فشاری با  $\text{PS} = 8$  بوده است (۱۰). در مطالعه‌ی Cohen و همکاران، استفاده از روش ACT برای جداسازی روش قابل اعتمادی بود، اما در مقایسه با روش Continuous positive airway pressure (CPAP) روند جداسازی از دستگاه را تسریع نمی‌کرد (۱۱).

مراقبت از بیماران نیازمند حمایت تنفسی، یکی از وظایف مهم بخش مراقبت‌های ویژه است که به خصوص در بیمارانی که نیاز به ونتیلاسیون دارند، نقش بسیار مهمی در کاهش میزان مرگ و میر بر عهده دارد. در ایالات متحده‌ی آمریکا، در حدود ۱۰ درصد بیماران بخش‌های مراقبت‌های ویژه به تهویه‌ی مکانیکی طولانی مدت نیاز دارند و این گروه از بیماران، بیشترین منابع انسانی و مالی بیمارستان را به خود اختصاص می‌دهند (۱۲، ۱). از این رو، انتخاب حالت مناسب بیماران علاوه بر کاهش مدت اقامت در بخش مراقبت‌های ویژه، با کاهش بروز عوارض ناشی از ونتیلاسیون و همچنین، کاهش هزینه‌های بیمارستانی همراه خواهد بود. از طرف دیگر، جداسازی بیماران از دستگاه ونتیلاتور، یکی از چالش‌های بخش مراقبت‌های ویژه است و انتخاب روشی که بالاترین موفقیت را در این زمینه به همراه داشته باشد، همواره مورد توجه بوده است (۱۳).

نتیجه‌گیری نهایی این که میزان موفقیت در جداسازی از دستگاه در بیمارانی که تحت حالت ACT تحت تهویه‌ی مکانیکی قرار گرفته بودند، بالاتر بود. از این رو، انتخاب این حالت در بیماران نیازمند تهویه‌ی مکانیکی علاوه بر کاهش ناخوشی و مرگ و میر و هزینه‌های بیمارستانی، می‌تواند به افزایش ظرفیت تخت‌های مراقبت‌های ویژه که در حال حاضر از مشکلات عمده‌ی بیمارستان‌ها و مراکز آموزشی - درمانی است، کمک کند.

## تشکر و قدردانی

مقاله‌ی حاضر، حاصل پایان‌نامه‌ی دکتری تخصصی رشته‌ی بیهوشی است که با شماره‌ی ۳۹۵۰۳۱ در حوزه‌ی معاونت پژوهشی دانشکده‌ی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تصویب شده است و با حمایت‌های ایشان به انجام رسید. از این رو، نویسندگان مقاله از زحمات ایشان تقدیر و تشکر می‌نمایند.

## References

1. Branson RD, Chatburn RL. Controversies in the critical care setting. Should adaptive pressure control modes be utilized for virtually all patients receiving mechanical ventilation? *Respir Care* 2007; 52(4): 478-85.
2. Branson RD, Johannigman JA. What is the evidence base for the newer ventilation modes? *Respir Care* 2004; 49(7): 742-60.
3. Jaber S. New dual ventilator modes: are we ready to perform large clinical trials? *Respir Care* 2009; 54(11): 1451-2.
4. Mireles-Cabodevila E, Diaz-Guzman E, Heresi GA, Chatburn RL. Alternative modes of mechanical ventilation: a review for the hospitalist. *Cleve Clin J Med* 2009; 76(7): 417-30.
5. Ashfaq H. Understanding mechanical ventilation: A practical handbook. 2<sup>nd</sup> ed. New York, NY: Springer; 2010.
6. Maeda Y, Fujino Y, Uchiyama A, Taenaka N, Mashimo T, Nishimura M. Does the tube-compensation function of two modern mechanical ventilators provide effective work of breathing relief? *Crit Care* 2003; 7(5): R92-R97.
7. Jaber S, Delay JM, Matecki S, Sebbane M, Eledjam JJ, Brochard L. Volume-guaranteed pressure-support ventilation facing acute changes in ventilatory demand. *Intensive Care Med* 2005; 31(9): 1181-8.
8. Jaber S, Sebbane M, Verzilli D, Matecki S, Wysocki M, Eledjam JJ, et al. Adaptive support and pressure support ventilation behavior in response to increased ventilatory demand. *Anesthesiology* 2009; 110(3): 620-7.
9. Selek C, Ozcan PE, Orhun G, Senturk E, Akinci IO,

- Cakar N. The comparison of automatic tube compensation (ATC) and t-piece during weaning. *Turk J Anaesthesiol Reanim* 2014; 42(2): 91-5.
10. El-Beleidy AS, Khattab AA, El-Sherbini SA, Al-Gebaly HF. Automatic tube compensation versus pressure support ventilation and extubation outcome in children: A randomized controlled study. *ISRN Pediatr* 2013; 2013: 871376.
  11. Cohen J, Shapiro M, Grozovski E, Fox B, Lev S, Singer P. Prediction of extubation outcome: a randomised, controlled trial with automatic tube compensation vs. pressure support ventilation. *Crit Care* 2009; 13(1): R21.
  12. Kallet RH, Campbell AR, Dicker RA, Katz JA, Mackersie RC. Work of breathing during lung-protective ventilation in patients with acute lung injury and acute respiratory distress syndrome: a comparison between volume and pressure-regulated breathing modes. *Respir Care* 2005; 50(12): 1623-31.
  13. Dongelmans DA, Veelo DP, Paulus F, de Mol BA, Korevaar JC, Kudoga A, et al. Weaning automation with adaptive support ventilation: a randomized controlled trial in cardiothoracic surgery patients. *Anesth Analg* 2009; 108(2): 565-71.

## Comparison of the Weaning Rate in Three Mechanical Ventilation Methods, Automatic Tube Compensation and Pressure Support Ventilation with Airway Pressures of Five and Eight Centimeters of Water

Parviz Kashefi<sup>1</sup>, Said Abbasi<sup>2</sup>, Farzaneh Katiraei<sup>3</sup>, Babak Alikiaii<sup>4</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** This study aimed to compare the weaning rate in three mechanical ventilation methods, automatic tube compensation and pressure support ventilation with airway pressures of five and eight centimeters of water.

**Methods:** In a clinical trial study, 105 patients admitted to the intensive care unit who needed ventilation distributed randomly in three groups of 35 individuals, under ventilation with automatic compensation tube mode (group 1), and under ventilation with pressure support ventilation with airway pressures of five (group 2) or eight (group 3) centimeters of water. The patients were placed in isolation and the rate and the time of success weaning from the device were compared between the three groups.

**Findings:** The rate of success in weaning from the ventilator was 88.6, 57.1 and 85.7 percent in groups 1, 2, and 3, respectively; and the difference between the groups was statistically significant ( $P = 0.002$ ). The mean time of weaning in the three groups was  $6.9 \pm 3.7$ ,  $8.9 \pm 6.4$  and  $7.1 \pm 10.6$  days, respectively; and there was not any significant difference between the three groups ( $P = 0.490$ ).

**Conclusion:** The rate of success in weaning from the device in patients undergoing mechanical ventilation under automatic tube compensation mode was higher and therefore, selecting this mode in these patients is better. In addition, morbidity and mortality rates and hospital costs would decrease in this method and bed capacity in intensive care units which is now a major problem for hospitals and health centers would increase.

**Keywords:** Mechanical ventilation, Automatic tube compensation, Pressure support ventilation

**Citation:** Kashefi P, Abbasi S, Katiraei F, Alikiaii B. Comparison of the Weaning Rate in Three Mechanical Ventilation Methods, Automatic Tube Compensation and Pressure Support Ventilation with Airway Pressures of Five and Eight Centimeters of Water. J Isfahan Med Sch 2017; 34(405): 1297-303.

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

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

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

4- Assistant Professor, Anesthesiology and Critical Care Research Center AND Department of Anesthesiology and Critical Care, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

**Corresponding Author:** Babak Alikiaii, Email: alikiib@med.mui.ac.ir

## طبقه‌بندی سلول‌های مؤثر در تشخیص سرطان میلوئیدی مزمن به روش نیمه خودکار پردازش

## تصاویر میکروسکوپی

نرجس قانع<sup>۱</sup>، علیرضا ورد<sup>۲</sup>، اردشیر طالبی<sup>۳</sup>، پردیس نعمت‌الهی<sup>۴</sup>

## مقاله پژوهشی

## چکیده

**مقدمه:** لوسمی میلوئیدی مزمن (Chronic myeloid leukemia یا CML)، نوعی بیماری سرطان خون است که اغلب، بزرگسالان را درگیر می‌کند. آزمایش خون، شمارش و بررسی سلول‌های شناور خون، اولین گام جهت تشخیص لوسمی است. تشخیص و شمارش سلول‌ها از روی لام خون محیطی، توسط پاتولوژیست با استفاده از میکروسکوپ نوری صورت می‌گیرد. این امر، فرایندی زمان‌بر و پرهزینه است و نیاز به تجربه و فرد خبره در این زمینه دارد. همچنین، عوامل دیگری از قبیل خستگی و شرایط کاری، می‌تواند در این ارزیابی تأثیر منفی داشته باشد. بنابراین، وجود ابزاری در کنار پاتولوژیست به منظور کمک در روند تشخیص، می‌تواند بسیار سودمند باشد. در این راستا، این پژوهش یک ابزار نرم‌افزاری جدید را برای تشخیص و طبقه‌بندی سلول‌های CML ارائه می‌کند.

**روش‌ها:** در روش پیشنهادی، پس از بخش‌بندی دستی دقیق سلول‌ها، با استفاده از تکنیک‌های پردازش تصویر، ویژگی‌های مختلف هندسی از سلول و هسته‌ی سلول‌های سفید رده‌ی نوتروفیل استخراج شدند. سپس، با به کارگیری این ویژگی‌های به دست آمده، سلول‌ها با استفاده از یک طبقه‌بندی کننده‌ی درختی طراحی شده‌ی جدید، به شش گروه دسته‌بندی شدند.

**یافته‌ها:** روش پیشنهادی بر روی ۱۲۰ تصویر میکروسکوپی شامل ۷۱۴ سلول سفید مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج به دست آمده، برای هر شش گروه صحت بالاتر از ۹۷ درصد، ویژگی بالاتر از ۹۸ درصد و حساسیت بالاتر از ۹۱ درصد را نشان داد.

**نتیجه‌گیری:** در این پژوهش، روشی نیمه اتوماتیک جهت طبقه‌بندی سلول‌های مؤثر در تشخیص سرطان میلوئیدی مزمن از تصاویر میکروسکوپی با به کارگیری روش‌های پردازش تصویر ارائه گردید.

**واژگان کلیدی:** لوسمی میلوئیدی مزمن، طبقه‌بندی، رده‌ی نوتروفیل، پردازش تصاویر میکروسکوپی

**ارجاع:** قانع نرجس، ورد علیرضا، طالبی اردشیر، نعمت‌الهی پردیس. طبقه‌بندی سلول‌های مؤثر در تشخیص سرطان میلوئیدی مزمن به روش نیمه

خودکار پردازش تصاویر میکروسکوپی. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۵؛ ۳۴ (۴۰۵): ۱۳۱۰-۱۳۰۴

است. این سلول‌ها، سلول‌های قرمز خون، سلول‌های سفید خون و پلاکت‌ها هستند. سلول‌های سفید خون، بخش مهمی از سیستم ایمنی بدن می‌باشد (۱).

شمارش سلول‌های سفید، یک موضوع مهم در حوزه‌ی تشخیص بیماری‌های مختلف از جمله لوسمی است. بنابراین، استخراج اطلاعات از آن‌ها برای پاتولوژیست‌ها با ارزش است. آزمایش خون و شمارش و بررسی سلول‌های شناور خون، اولین گام جهت تشخیص لوسمی است. تشخیص و شمارش سلول‌ها در مسیر تکاملی

## مقدمه

لوسمی، عنوان گروهی از انواع سرطان است که به لوسمی لنفوئیدی مزمن (Chronic lymphocytic leukemia یا CLL)، لوسمی میلوئیدی مزمن (Chronic myeloid leukemia یا CML)، لوسمی لنفوئیدی حاد (Acute lymphocytic leukemia یا ALL) و لوسمی میلوئیدی حاد (Acute myeloid leukemia یا AML) تقسیم‌بندی می‌گردد و به طور معمول، از مغز استخوان شروع می‌شود. مغز استخوان، بافت انعطاف‌پذیری متشکل از سه نوع سلول خونی

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

۲- استادیار، گروه بیوالکترونیک و مهندسی پزشکی، دانشکده‌ی فن‌آوری‌های نوین علوم پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۳- دانشیار، گروه پاتولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۴- استادیار، گروه پاتولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران



بدون گرانول (دانه‌های ظریف) است. گاهی در این سلول، تجمع گرانول‌های اولیه دیده می‌شود. پرومیلویت، به طور معمول بزرگ است و قطری حدود ۲۱-۱۵ میکرون دارد. هسته‌ی این سلول، همچنان بزرگ، گرد یا بیضی‌شکل با کروماتین ظریف و یکنواخت است. ممکن است در داخل هسته‌ی آن، ۳-۱ هستک دیده شود. رنگ سیتوپلاسم سلول، آبی روشن است. وسعت سیتوپلاسم سلول، کمی بیشتر و همراه با گرانول می‌باشد. میلویت، قطری حدود ۱۸-۱۲ میکرون دارد. هسته‌ی این سلول گرد یا بیضی‌شکل همراه با افزایش تراکم کروماتین و بدون هستک است. سیتوپلاسم سلول، نسبت به مرحله‌ی قبل وسیع‌تر شده است و گرانول‌های ثانویه در درون سیتوپلاسم سلول مشاهده می‌گردد. متامیلوسیت، قطری حدود ۱۸-۱۰ میکرون دارد. کروماتین هسته متراکم شده و همراه با فرورفتگی هلالی شکل است. رنگ سیتوپلاسم صورتی و دارای گرانول‌های ثانویه است. سلول باند، با قطری حدود ۱۶-۱۰ میکرون، دارای هسته‌ی نعلی شکل می‌باشد. سیتوپلاسم سلول، دارای گرانول‌های صورتی رنگ است. سلول نوتروفیل، دارای قطری حدود ۱۶-۱۰ میکرون و هسته‌ی چند لوبه است. کروماتین هسته، متراکم شده است. تعداد لوب‌های هسته ۵-۲ عدد می‌باشد. لوب‌ها، توسط رشته‌های نازک کروماتین به هم متصل می‌شوند. سیتوپلاسم نوتروفیل، صورتی رنگ و دارای گرانول‌های ثانویه می‌باشد (۳).

در چند سال اخیر، مقالاتی در زمینه‌ی جداسازی و طبقه‌بندی سلول‌های سفید مغز استخوان به روش‌های مختلف (۱۱-۴) مبتنی بر ویژگی‌های هندسی، ویژگی‌های بافت، ویژگی‌های آماری و ویژگی‌های رنگ با طبقه‌بندی کننده‌های مختلف انجام شده است، اما به طور خاص، در زمینه‌ی تشخیص و شمارش نمونه‌های CML مقاله‌ای گزارش نشده است. در روش پیشنهادی پس از برچسب‌گذاری، ۷۱۴ سلول توسط پاتولوژیست، بخش‌بندی سلول‌ها به صورت دستی انجام گردید. در ادامه، با به کارگیری روش‌های پردازش تصویر، ویژگی‌های مختلف هندسی، از هسته و سلول نمونه‌های CML استخراج شد.

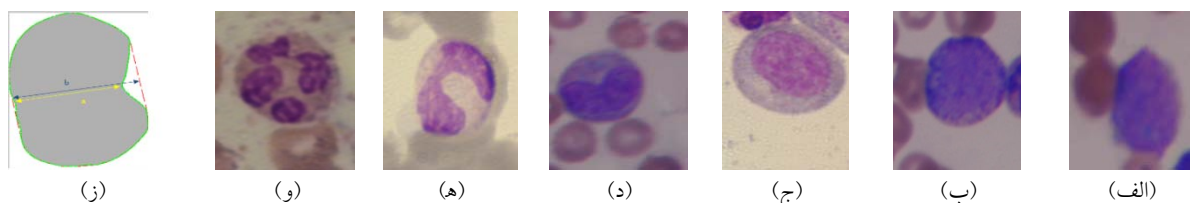
گرانولوسیت‌ها از روی لام خون محیطی، توسط فرد خبره (پاتولوژیست) با میکروسکوپ نوری صورت می‌گیرد.

این امر، با وجود نیاز داشتن به تجربه و فرد خبره در این زمینه، برای انجام آزمایش‌های تکمیلی با فلوسیتومتری نیاز به صرف زمان و هزینه دارد. به علاوه، این روش مبتنی بر ادراکات ذهنی است و پاتولوژیست‌های مختلف، ممکن است تفسیرهای مختلفی داشته باشند. عوامل دیگر نظیر خستگی، شرایط کاری و غیره در این ارزیابی تأثیرگذار هستند. به همین دلیل، وجود ابزاری در کنار پاتولوژیست به منظور بالا بردن صحت و سرعت در تشخیص تأثیرگذار است.

به طور کلی، سلول‌های سفید خون حاوی هسته و سیتوپلاسم هستند که می‌توان آن‌ها را به دو گروه اصلی، گرانولوسیت‌ها و آگرانولوسیت‌ها تقسیم نمود. گرانولوسیت‌ها شامل سه نوع نوتروفیل، بازوفیل و ائوزینوفیل هستند و آگرانولوسیت‌ها شامل لنفوسیت‌ها و مونوسیت‌ها می‌باشند. مراحل بلوغ نوتروفیل سلول‌های گرانولوسیت، به صورت میلو بلاست (MB یا Myeloblast)، پرومیلویت (PM یا Promyelocyte)، میلویت (M یا Myelocyte)، متامیلوسیت (MM یا Meta myelocyte)، باند (B یا Band) و نوتروفیل (N یا Neutrophil) مطابق شکل ۱ (الف-و) می‌باشند.

لوسمی میلوئیدی مزمن، بر اثر افزایش تعداد سلول‌های سفید که به طور عمده از رده‌ی بعد از میلو بلاست‌ها هستند، به وجود می‌آید (۲). پژوهش حاضر، برای شناسایی دقیق سلول‌های گرانولوسیت به منظور وجود ابزاری در کنار پاتولوژیست به منظور بالا بردن صحت و سرعت در تشخیص با استفاده از تکنیک‌های نوین پردازش تصویر انجام گردید.

برای شناسایی ویژگی‌های سلول‌های رده‌ی نوتروفیلی، ویژگی‌های این سلول‌ها در جدول ۱ آمده است. میلو بلاست، اولین و نابالغ‌ترین سلول از رده‌ی نوتروفیلی است که به طور معمول بزرگ است و قطری حدود ۲۰-۱۵ میکرون دارد. هسته‌ی این سلول بزرگ، گرد یا بیضی‌شکل با کروماتین ظریف و بنفش روشن و تعداد ۵-۲ هستک واضح می‌باشد. مقدار سیتوپلاسم آن کم و آبی نیلگون



شکل ۱. از راست به چپ: (الف) میلو بلاست، (ب) پرومیلویت، (ج) میلویت، (د) متامیلوسیت، (ه) باند، (و) نوتروفیل، (ز) نسبت کمینه‌ی پهنای هسته (a) به کمینه‌ی پهنای Convexity هسته (b)

جدول ۱. ویژگی‌های سلول‌های رده‌ی نوتروفیلی

سلول	اندازه ( $\mu\text{m}$ )	شکل هسته	کروماتین هسته	رنگ سیتوپلاسم	هستک	نسبت هسته به سیتوپلاسم	گرانول
MB	۱۵-۲۰	دایره یا بیضی	ظریف	آبی	۱ یا بیشتر	۶ به ۱	ندارد- گاهی گرانول‌های اولیه
PM	۱۵-۲۱	دایره یا بیضی	متراکم‌تر از MB	آبی روشن	۱ یا بیشتر	۴ به ۱	گرانول‌های اولیه
M	۱۲-۱۸	دایره یا بیضی	متراکم‌تر از PM	صورتی	ندارد	۳ به ۱	گرانول‌های ثانویه ظاهر شده است
MM	۱۰-۱۸	کلیه ای شکل	متراکم	صورتی	ندارد	۳ به ۲	گرانول‌های ثانویه
B	۱۰-۱۶	نعلی شکل	متراکم	صورتی	ندارد	۱ به ۲	گرانول‌های ثانویه
N	۱۰-۱۶	چند لوبه	خشن و توده توده	صورتی	ندارد	۱ به ۳	گرانول‌های ثانویه

MB: میلوبلاست (Myeloblast); PM: پرومیلو سیت (Promyelocyte); M: میلو سیت (Myelocyte); MM: متامیلوسیت (Meta myelocyte); B: باند (Band); N: نوتروفیل (Neutrophil)

ویژگی‌ها (یا بردار ویژگی) است که به طور اساسی حاوی اطلاعات مفیدی از آن تصویر است (۱۲). در این مطالعه، هدف به دست آوردن ویژگی‌هایی بود که بتوان از آن‌ها برای طبقه‌بندی انواع سلول‌های رده‌ی نوتروفیلی استفاده کرد. در این راستا و پس از بررسی ویژگی‌های مختلف، در این مطالعه بهترین ویژگی‌های استخراج شده‌ی هندسی تعیین شدند.

مطابق با تغییرات زیاد شکل هسته در این رده و ویژگی‌هایی که پزشک به صورت چشمی برای شناسایی سلول‌های رده‌ی نوتروفیلی استفاده می‌کند، ویژگی‌های هندسی شامل تعداد لوب‌های هسته، محیط هسته، نسبت کمینه‌ی پهنای هسته به فاصله‌ی Hausdorff (۱۳) بین هسته و سلول و نسبت کمینه‌ی پهنای هسته به کمینه‌ی پهنای Convexity هسته تعیین شدند که هر کدام در ادامه توضیح داده می‌شود:

تعداد هسته: پس از جداسازی هسته از سلول، شمارش تعداد اجزای جدا از هم در تصویر باینری هسته، تعداد لوب‌های هسته می‌باشد. ردیف آخر از شکل ۱ (و) نشان دهنده‌ی یک سلول با هسته‌ی چند لوبه است.

محیط: محیط هر شیء با شمارش پیکسل‌های روی مرز آن به دست می‌آید.

نسبت کمینه‌ی پهنای هسته به کمینه‌ی پهنای Convexity هسته: برای محاسبه‌ی این ویژگی از الگوریتم تنگنا (۱۴) بر روی هسته و Convexity هسته، به منظور محاسبه‌ی میزان فرورفتگی هسته مطابق شکل ۱ (ز) استفاده می‌گردد.

نسبت کمینه‌ی پهنای هسته به فاصله‌ی Hausdorff بین هسته و سلول: از ویژگی نسبت کمینه‌ی پهنای هسته به فاصله‌ی Hausdorff بین هسته و سلول (دورترین فاصله بین مرز هسته و مرز سلول) برای جداسازی دو گروه بلاست و پرومیلو سیت از میلو سیت استفاده می‌گردد.

پس از بررسی ویژگی‌های به دست آمده از سلول‌ها، بهترین ویژگی‌ها انتخاب شدند. در نهایت، با به کارگیری یک طبقه‌بندی کننده‌ی درختی جدید، دسته‌بندی سلول‌ها انجام گردید.

## روش‌ها

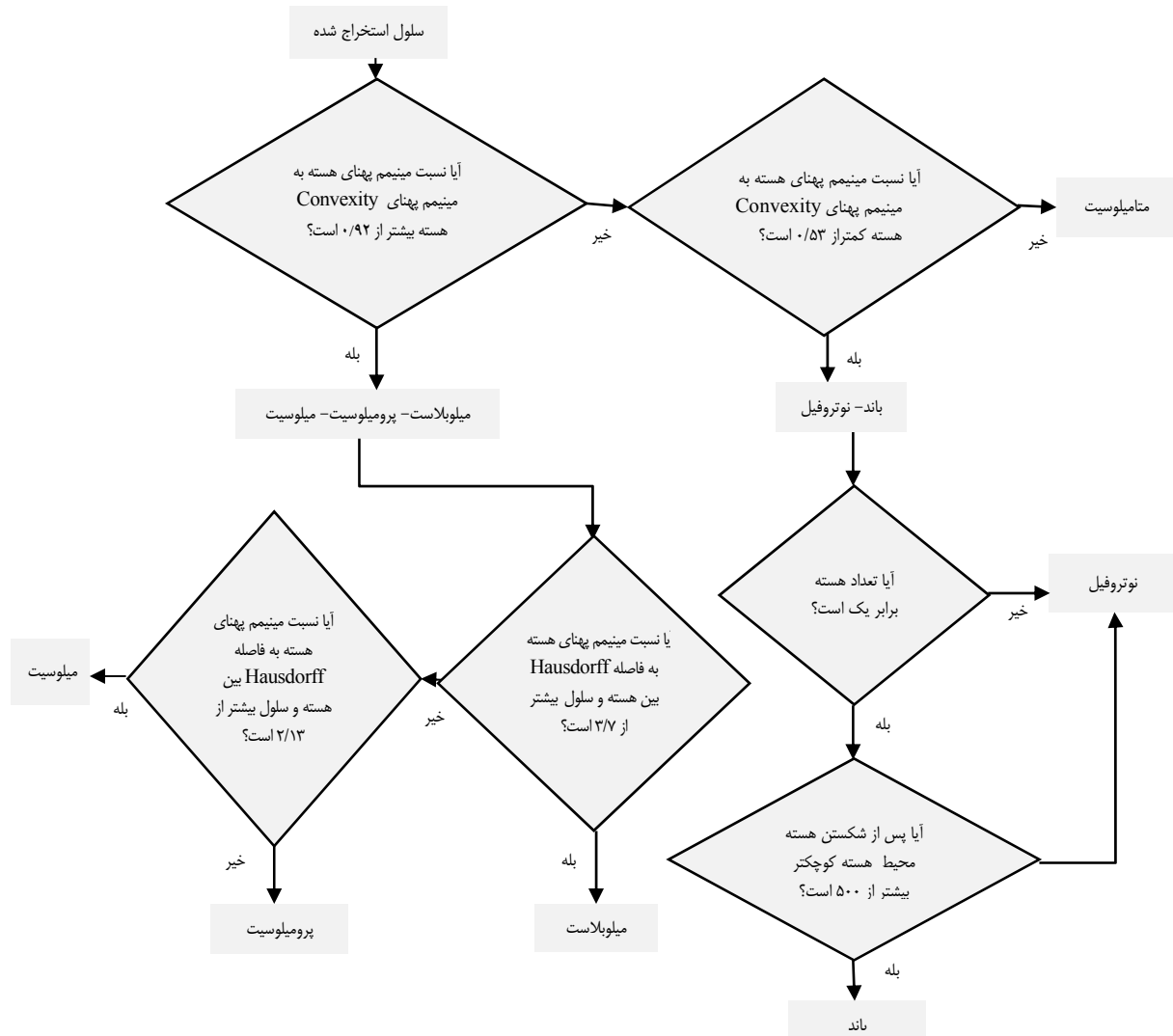
برای میزان خطای مجاز ۰/۰۹، مقدار حجم نمونه برابر با ۱۲۰ تصویر تعیین گردید. در این مطالعه که با همکاری بخش پاتولوژی بیمارستان الزهراء (س) اصفهان انجام شد، ۶ اسمیر اسپیراسیون مغز استخوان طبیعی تهیه گردید. جهت انتخاب نمونه‌های مورد، تشخیص طبیعی یا مبتلا به سرطان بودن اسمیرها، علاوه بر پزشک متخصص با استفاده از روش فلوسایتومتری (Flow cytometry) نیز تأیید شد. سپس، با کمک پزشک متخصص گروه پاتولوژی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، از نواحی مختلف لام‌ها پس از رنگ‌آمیزی با گیمسا، تصویربرداری شد.

تصویربرداری از لام‌های آزمایشگاهی، با میکروسکوپ نوری مدل Nikon Eclipse 50i با بزرگ‌نمایی ۱۰۰۰ و دوربین عکس‌برداری Nikon ۱ V1 که بر روی آن نصب شد، انجام گردید. تمامی تصاویر، رنگی در حوزه‌ی RGB و با اندازه‌ی ۴۰۳۲ × ۳۰۲۴ پیکسل بودند. پس از انتقال این تصاویر به رایانه، مراحل نرم‌افزاری به این صورت انجام شد که در ابتدا، مرز سلول‌های مد نظر به همراه هسته‌ی آن‌ها به منظور کاهش خطا به صورت دستی تعیین شد.

در ادامه و پس از انجام عملیات پیش پردازش، سلول و هسته‌ی استخراج شده، وارد مرحله‌ی استخراج ویژگی به منظور طبقه‌بندی سلول‌ها شدند. پس از انتخاب ویژگی‌های مناسب، با به کارگیری یک نمودار درختی طراحی شده (شکل ۲)، دسته‌بندی سلول‌ها انجام گردید.

## پیش پردازش و استخراج ویژگی

بعد از استخراج سلول و جداسازی کامل هسته، گام بعدی مرحله‌ی استخراج ویژگی بود. استخراج ویژگی در پردازش تصویر به عنوان تکنیکی برای کاهش مقدار زیادی از اطلاعات اضافی به یک مجموعه



شکل ۲. درخت طراحی شده جهت طبقه‌بندی

### طبقه‌بندی

هدف اصلی طبقه‌بندی کننده، دسته‌بندی سلول‌های رده‌ی نوتروفیلی در گروه خود می‌باشد. برای انجام این کار، تمام ویژگی‌های به دست آمده در مرحله‌ی قبل به عنوان ورودی به طبقه‌بندی کننده‌ی درختی طراحی شده ارسال می‌شوند که در آن جا با توجه به مقادیر آستانه‌ی تعیین شده، هر گروه از سلول‌ها جداسازی می‌شوند. در این تحقیق، ۷۱۴ سلول MB، PM، M، MM، B و N برچسب‌گذاری شده، مورد استفاده قرار گرفتند. ماتریس ویژگی داده‌ها به صورت  $۷۱۴ \times ۴$ ، شامل ویژگی‌های هندسی می‌باشد. ویژگی‌های استخراج شده، به صورت مجزا مورد بررسی قرار گرفتند و بهترین ساختار درختی مطابق شکل ۲ برای جداسازی آن‌ها طراحی گردید.

با توجه به ویژگی‌های مطرح شده در جدول ۱، شکل سه گروه آخر MB، B و N دارای انحنای بودند. بنابراین، مطابق با جدول ۱، این سه گروه با استفاده از ویژگی نسبت مینیمم پهنای هسته به

کمینه‌ی پهنای Convexity هسته با مقدار کمتر از ۰/۹۲ از سه گروه MB، PM و M با مقدار بیشتر از ۰/۹۲ جدا شدند. پس از تعیین حد آستانه بین ۰/۵۳ و ۰/۹۲ برای این ویژگی، سلول‌های MM جدا شد و سلول‌های دارای مقدار کمتر از ۰/۵۳ در دو گروه B یا N قرار گرفتند. برای جداسازی نوتروفیل‌ها و باندها، پس از اعمال الگوریتم تنگنا به منظور به دست آوردن کمینه‌ی پهنای هسته، محیط قسمت کوچک‌تر به دست آمد. این مقدار، برای نوتروفیل‌های کوچک‌تر از ۵۰۰ و برای باندها بیشتر از ۵۰۰ بود.

همان‌طور که در جدول ۱ آمده است، نسبت هسته به سیتوپلاسم و اندازه‌ی هسته از سلول نابالغ به سمت سلول بالغ کاهش یافت، اما با توجه به پیدا نکردن مقدار بهینه برای این ویژگی‌ها، از نسبت کمینه‌ی پهنای هسته به فاصله‌ی Hausdorff بین هسته و سلول با مقدار کمتر از ۲/۱۳ به منظور جداسازی M از MB و PM استفاده گردید. برای جداسازی PM بازه‌ی بین ۲/۱۳ و ۳/۷ انتخاب شد و

$$\text{حساسیت} = \frac{T_p}{T_p + F_n} \quad (1)$$

$$\text{ویژگی} = \frac{T_p}{T_p + F_p} \quad (2)$$

$$\text{صحت} = \frac{T_p + T_n}{T_p + T_n + F_p + F_n} \quad (3)$$

که در آن  $T_p$  بیانگر سلول‌هایی است که با توجه به نظر پزشک، سلول مد نظر می‌باشند و توسط الگوریتم به درستی به عنوان سلول مد نظر شناخته شده‌اند.  $T_n$  بیانگر سلول‌هایی است که با توجه به نظر پزشک، سلول مد نظر نمی‌باشند و توسط الگوریتم به درستی به عنوان سلول مد نظر شناخته نشده‌اند.  $F_p$  بیانگر سلول‌هایی است که با توجه به نظر پزشک سلول مد نظر نمی‌باشند و توسط الگوریتم به اشتباه به عنوان سلول مد نظر شناخته شده‌اند و  $F_n$  بیانگر سلول‌هایی است که با توجه به نظر پزشک، سلول مد نظر می‌باشند و توسط الگوریتم به اشتباه به عنوان سلول مد نظر شناخته نشده‌اند. جدول ۲ بیانگر پارامترهای ویژگی، حساسیت و صحت از طبقه‌بندی سلول‌های مد نظر می‌باشد.

### بحث

CML نوعی بیماری است که به طور عمده بزرگ‌سالان را درگیر می‌کند. CML آن دسته از سلول‌های بلاستی را تحت تأثیر قرار می‌دهد که قرار است به گرانولوسیت (نوعی از سلول‌های سفید) تبدیل شوند. تشخیص به موقع و دقیق بیماری، می‌تواند از صرف زمان و هزینه‌ی زیاد جلوگیری کند. در این مطالعه، روشی نیمه اتوماتیک برای تشخیص سلول‌های مؤثر در تشخیص CML ارائه شد. بدین منظور، پس از بخش‌بندی دستی، ویژگی‌های مختلف تصویری مطابق با جدول ۱، استخراج گردید و پس بررسی و انجام آزمایش‌های مختلف، ویژگی‌های هندسی استخراج شده شامل تعداد لوب‌های هسته، محیط هسته، نسبت کمینه‌ی پهنای هسته به فاصله‌ی Hausdorff بین هسته و سلول، نسبت کمینه‌ی پهنای هسته به کمینه‌ی پهنای Convexity هسته به عنوان بهترین ویژگی‌ها تعیین شدند. سپس، الگوریتم طبقه‌بندی پیشنهادی برای این ویژگی‌های هندسی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج به دست آمده، در جدول ۳ ارائه گردیده است.

همان‌طور که در جدول ۳ دیده می‌شود، از میان ۶۱ سلول MB، ۵۶ سلول به درستی MB و ۵ سلول به اشتباه PB تشخیص داده شدند. از میان ۳۳ سلول PB، ۳۱ سلول به درستی PB، ۱ سلول به اشتباه M و ۱ سلول به اشتباه MB تشخیص داده شدند. از میان ۲۱۰ سلول M، ۲۰۲ سلول به درستی M و ۸ سلول به اشتباه PB تشخیص داده شده است. از میان ۱۶۸ سلول MM، ۱۶۷ سلول به درستی MM

برای جداسازی MB مقادیر بیشتر از ۳/۷ در نظر گرفته شد.

### یافته‌ها

الگوریتم طراحی شده برای طبقه‌بندی سلول‌های رده‌ی نوتروفیلی بر روی ۷۱۴ سلول استخراج شده از ۱۲۰ تصویر میکروسکوپی آزمایش گردید. تعداد هر گروه سلولی در جدول ۲ آمده است. به منظور ارزیابی نتیجه‌ی طبقه‌بندی همه‌ی سلول‌ها، ماتریس Confusion (۱۵) برای ویژگی‌های هندسی مطابق جدول ۳ ترسیم شده است.

جدول ۲. نتایج الگوریتم تشخیصی برای ویژگی‌های هندسی

نوع تشخیص	تعداد سلول‌ها	صحت	ویژگی	حساسیت
MB	۶۱	۹۹	۹۹	۹۱
PM	۳۳	۹۷	۹۸	۹۳
M	۲۱۰	۹۸	۹۹	۹۶
MM	۱۶۸	۹۹	۹۹	۹۹
B	۱۴۱	۹۹	۹۹	۹۸
N	۱۰۱	۹۹	۹۹	۹۹

ماتریس Confusion صحت بین نتیجه‌ی خروجی طبقه‌بندی و برچسب‌های درست برای هر سلول را نشان می‌دهد. در این ماتریس ۶ × ۶ ردیف‌ها، نشان دهنده‌ی برچسب‌های درست برای هر گروه سلول و ستون‌ها، نشان دهنده‌ی نتیجه‌ی طبقه‌بندی الگوریتم طراحی شده می‌باشد.

جدول ۳. ماتریس Confusion برای ویژگی‌های هندسی

نتیجه‌ی خروجی الگوریتم						
N	B	MM	M	PM	MB	
۰	۰	۰	۰	۵	۵۶	MB
۰	۰	۰	۱	۳۱	۱	PM
۰	۰	۰	۲۰۲	۸	۰	M
۰	۱	۱۶۷	۰	۰	۰	MM
۱	۱۳۹	۱	۰	۰	۰	B
۱۰۰	۱	۰	۰	۰	۰	N

در انتها، این نتایج با نظر مشترک دو پزشک متخصص مقایسه شدند. به منظور بررسی صحت نتایج به دست آمده به صورت آماری، پارامترهایی مانند ویژگی (Specificity)، حساسیت (Sensitivity) و صحت (Accuracy) (۱۶) از داده‌های به دست آمده، محاسبه گردید. این مقادیر، با توجه به روابط (۱)، (۲) و (۳) به دست می‌آیند.

سلول‌های مشابه داشته باشند.

در پایان، تأکید می‌شود این روش، روشی کمکی است و نمی‌تواند به صورت کامل جایگزین بررسی مورفولوژیک توسط پاتولوژیست خبره و روش‌های آزمایشگاهی تکمیلی مانند فلوسیتومتری شود، اما با توجه به نتایج به دست آمده در این مطالعه، استفاده از ویژگی‌های هندسی و طبقه‌بندی کننده‌ی درختی روشی مناسب برای تشخیص سلول‌های مد نظر می‌باشد که علاوه بر صحت بالا، موجب کاهش هزینه، زمان و خستگی پزشک می‌گردد. به همین منظور، برای ادامه‌ی کار در آینده، می‌توان با افزایش داده‌ها الگوریتم طراحی شده را ارزیابی دقیق‌تر کرد و در صورت نیاز ویژگی‌های جدیدی به آن اضافه نمود. همچنین، می‌توان اتوماتیک کردن قسمت بخش‌بندی را مورد بررسی قرار داد.

### تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی مصوب به شماره‌ی ۳۹۴۳۲۵ در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان می‌باشد.

و ۱ سلول به اشتباه B تشخیص داده شدند. از میان ۱۴۱ سلول B، ۱۳۹ سلول به درستی B، ۱ سلول به اشتباه MM و ۱ سلول به اشتباه N تشخیص داده شدند. از میان ۱۰۱ سلول N، ۱۰۰ سلول به درستی N و ۱ سلول به اشتباه B تشخیص داده شدند. مطابق با نتایج به دست آمده در جدول ۲، پارامترهای صحت، ویژگی و حساسیت برای هر شش گروه به ترتیب ۹۹، ۹۹ و ۹۱ درصد برای MB، ۹۷، ۹۸ و ۹۳ درصد برای PM، ۹۹، ۹۸ و ۹۶ درصد برای M، ۹۹، ۹۹ و ۹۹ درصد برای MM، ۹۹، ۹۹ و ۹۸ درصد برای B، ۹۹، ۹۹ و ۹۹ درصد برای N به دست آمد.

برای تشخیص لوسمی میلوئیدی مزمن، تنها تشخیص سلول‌ها منجر به تشخیص بیماری نمی‌شود و شمارش این سلول‌ها نیز لازم است. از بین ۲۰۰ سلول شناسایی شده در اسمیر خون محیطی در لوسمی میلوئیدی مزمن، حداکثر تا ۱۰ درصد میلوبلاست مجاز است و بیشترین تعداد سلول‌های رده‌ی میلوئید باید میلوپوسیت‌ها و نوتروفیل‌ها باشند. اگر تنها تشخیص نوع سلول داده شود، لوسمی میلوئیدی حاد نوع M2 و واکنش لوکموئید هم ممکن است

### References

- Hoffbrand AV, Moss PAH, Pettit JE. Essential hematology. Hoboken, NJ: Blackwell; 2006. p. 20-7.
- Zucker-Franklin D, Greaves MF, Grossi CE, Marmont AM. Atlas of blood cells: Function and pathology. Milan, Italy: Edi Ermes; 1988.
- Löffler H, Rastetter J. Atlas of clinical hematology. 5<sup>th</sup> ed. New York, NY: Springer; 2000.
- Habibzadeh M, Krzyzak A, Fevens T. Analysis of white blood cell differential counts using dual-tree complex wavelet transform and support vector machine classifier. In: Bolc L, Tadeusiewicz R, Chmielewski LJ, Wojciechowski K, editors. Computer Vision and Graphics: International Conference, ICCVG 2012, Warsaw, Poland, September 24-26, 2012. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2012. p. 414-22.
- Laosai J, Chamnongthai K. Acute leukemia classification by using SVM and K-Means clustering. Proceedings of the International Electrical Engineering Congress (iEECON 2014); 2014 Mar 19-21; Chonburi, Thailand.
- Piuri V, Scotti F. Morphological classification of blood leucocytes by microscope images. Proceedings of the IEEE International Conference on Computational Intelligence for Measurement Systems and Applications (CIMS A 2004); 2004 Jul 14-16; Boston, MA, USA.
- Rezatofighi SH, Soltanian-Zadeh H. Automatic recognition of five types of white blood cells in peripheral blood. Computerized Medical Imaging and Graphics 35(4): 333-43.
- Ross NE, Pritchard CJ, Rubin DM, Duse AG. Automated image processing method for the diagnosis and classification of malaria on thin blood smears. Med Biol Eng Comput 2006; 44(5): 427-36.
- Sabino DMU, da Fontoura Costa L, Gil Rizzatti E, Antonio Zago M. A texture approach to leukocyte recognition. Real-Time Imaging 2004; 10(4): 205-16.
- Soltanzadeh R, Rabbani H. Classification of three types of red blood cells in peripheral blood smear based on morphology. Proceedings of the 10<sup>th</sup> International Conference on Signal Processing (ICSP 2010); 2010 Oct 24-28; Beijing, China.
- Saeedizadeh Z, Mehri DA, Talebi A, Rabbani H, Sarrafzadeh O, Vard A. Automatic recognition of myeloma cells in microscopic images using bottleneck algorithm, modified watershed and SVM classifier. J Microsc 2016; 261(1): 46-56.
- Chora RS. Image feature extraction techniques and their applications for CBIR and biometrics systems. Int J Biol Biomed Eng 2007; 1(1): 6-16.
- Huttenlocher DP, Klanderma GA, Rucklidge WA. Comparing Images Using the Hausdorff Distance. IEEE Trans Pattern Anal Mach Intell 1993; 15(9): 850-63.
- Wang H, Zhang H, Ray N. Clump splitting via bottleneck detection and shape classification. Pattern Recognit 2012; 45(7): 2780-7.
- Amin MM, Kermani S, Talebi A, Oghli MG. Recognition of acute lymphoblastic leukemia cells in microscopic images using k-means clustering and support vector machine classifier. J Med Signals Sens 2015; 5(1): 49-58.
- Glas AS, Lijmer JG, Prins MH, Bonsel GJ, Bossuyt PM. The diagnostic odds ratio: a single indicator of test performance. J Clin Epidemiol 2003; 56(11): 1129-35.

## Classification of Effective Cells in Diagnosis of Chronic Myeloid Leukemia (CML) Using Semi-automatic Image Processing of Microscopic Images

Narjes Ghane<sup>1</sup>, Alireza Vard<sup>2</sup>, Ardeshir Talebi<sup>3</sup>, Pardis Nematollahy<sup>4</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** Chronic myelogenous leukemia (CML) is a type of blood cancers that usually occur in adults. The first step for diagnosis of leukemia is blood test and counting cells. Diagnosis and counting cells from blood smear are done by pathologist using optical microscope. This is a time-consuming and costly process and needs experience and expert in this field. Besides, other factors such as fatigue and working conditions can negatively affect the diagnostic evaluation. Thus, an aid tool for pathologists to help in the diagnostic process can be so useful. This research proposed a novel software tool to diagnose and classify of chronic myeloid leukemia cells.

**Methods:** In the proposed method, after accurate manual segmentation, various geometric features of cell and nucleus were extracted from neutrophils cells using image processing techniques. Then, applying these features by a new designed tree classifier, cells were categorized in to six groups.

**Findings:** The proposed method was evaluated on 120 blood smear microscopic images including 714 white blood cells (WBCs). An accuracy of over 97%, specificity of over 98% and sensitivity of over 91% for all of six groups were achieved.

**Conclusion:** In this study, a semi-automatic method was proposed for detection and classification of effective cells in diagnosis of chronic myeloid leukemia in microscopic images utilizing image processing methods.

**Keywords:** Chronic myeloid leukemia, Classification, Granulocytic category, Image processing

**Citation:** Ghane N, Vard A, Talebi A, Nematollahy P. **Classification of Effective Cells in Diagnosis of Chronic Myeloid Leukemia (CML) Using Semi-automatic Image Processing of Microscopic Images.** J Isfahan Med Sch 2017; 34(405): 1304-10.

1- MSc Student, Department of Bioelectric and Biomedical Engineering AND Student Research Committee, School of Advanced Technologies in Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

2- Assistant Professor, Department of Bioelectric and Biomedical Engineering, School of Advanced Technologies in Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

3- Associate Professor, Department of Pathology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

4- Assistant Professor, Department of Pathology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

**Corresponding Author:** Alireza Vard, Email: vard@amt.mui.ac.ir

## بررسی سطح سرمی ویتامین D و ارتباط آن با شدت بیماری در بیماران آرتریت روماتوئید

محسن نوروزی<sup>۱</sup>، مهدی غلامزاده بانیس<sup>۲</sup>

## مقاله پژوهشی

## چکیده

**مقدمه:** آرتریت روماتوئید یک بیماری التهابی مزمن پیش‌رونده است که باعث درد و سفتی، تورم و تخریب بافت مفصل می‌شود. این مطالعه، با هدف ارزیابی رابطه‌ی سطح سرمی ویتامین D در افراد مبتلا به آرتریت روماتوئید با شدت بیماری انجام شد.

**روش‌ها:** مطالعه‌ی حاضر، یک مطالعه‌ی توصیفی-تحلیلی و از نوع مقطعی بود که در شهر قم در ۶ ماه دوم سال ۱۳۹۴ انجام شد. تعداد ۱۲۰ نفر در این مطالعه بر اساس ارزیابی و در نظر گرفتن معیارهای ورود و خروج برای هر یک از بیماران وارد مطالعه شدند. نمونه‌ها به صورت غیر تصادفی در دسترس انتخاب می‌شوند. میزان فعالیت یا شدت بیماری بر اساس معیار Disease activity score 28 (DAS 28) تعیین می‌شود.

**یافته‌ها:** ۹۲ نفر (۷۶/۷) از بیماران زن بودند و میانگین سنی بیماران  $48/26 \pm 13/28$  سال بود. سطح سرمی ویتامین D در ۱۹ نفر (۱۵/۸ درصد) کمتر از حد طبیعی بود. شدت بیماری برای ۵۴ نفر (۴۵/۰ درصد) شدید، برای ۵۱ نفر (۴۲/۵ درصد) متوسط و برای ۱۵ نفر (۱۲/۵ درصد) خفیف گزارش شد. در بررسی ارتباط بین فعالیت بیماری بر اساس معیار و سطح سرمی ویتامین D، تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده نشد ( $P > 0/050$ ).

**نتیجه‌گیری:** پیشنهاد می‌شود با توجه به شیوع، اهمیت و عوارض بیماری آرتریت روماتوئید، مطالعات بیشتر، دقیق‌تر و کامل‌تری در این زمینه انجام شود تا گروه‌های بهداشتی-درمانی بتوانند نتیجه‌گیری دقیقی در خصوص رویکرد پیش‌گیرانه و درمانی در زمینه‌ی ارتباط ویتامین D و شدت بیماری در بیماران آرتریت روماتوئید، اتخاذ نمایند.

**واژگان کلیدی:** آرتریت روماتوئید، شدت بیماری، روماتیسم، ویتامین D، Disease activity score 28

**ارجاع:** نوروزی محسن، غلامزاده بانیس مهدی. بررسی ارتباط سطح سرمی ویتامین D و ارتباط آن با شدت بیماری در بیماران آرتریت روماتوئید.

مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۵؛ ۳۴ (۴۰۵): ۱۳۱۷-۱۳۱۱

## مقدمه

باشد، مفیدتر خواهد بود (۷-۸). ویتامین D نقش مهمی در متابولیسم استخوان بازی می‌کند و همچنین، تنظیم‌کننده‌ی سیستم ایمنی است. بعضی مطالعات، نشان دهنده‌ی نقش بالقوه‌ی این ویتامین در پیش‌گیری از بیماری‌های خود ایمن هستند، اما اطلاعات فعلی برای اثبات یک رابطه‌ی معنی‌دار بین سطوح هورمون و بروز بیماری‌های خود ایمن ناکافی است (۸). کمبود ویتامین D، یک پدیده‌ی فزاینده‌ی در سراسر جهان به شمار می‌رود (۹). شواهد قانع‌کننده‌ی از انجمن‌ها و مطالعات فیزیولوژیکی اولیه نشان داده است که اختلالات فیزیولوژیکی مختلفی که کمبود ویتامین D در آن نقش دارد، شامل نوروپاتی (۹)، بدخیمی (۱۰)، ناباروری (۱۱)، بیماری‌های قلبی-عروقی (۱۲)، بیماری‌های کلیوی (۱۳)، متابولیسم گلوکز (۱۴) و اختلالات ایمنی (۱۵) می‌باشد.

آرتریت روماتوئید (RA یا Rheumatoid arthritis) یک بیماری التهابی مزمن پیش‌رونده‌ای است که باعث درد و سفتی، تورم و تخریب بافت مفصل می‌شود (۱). ۱ درصد از جمعیت جهان به این بیماری مبتلا هستند (۲). این بیماری، علاوه بر کاهش طول عمر متوسط بیماران، با ناخوشی قابل توجهی همراه است؛ به طوری که ۵۰ درصد از مبتلایان به RA بعد از گذشت ۱۰ سال از بیماری قادر به ادامه‌ی شغل خود نیستند (۳). بنابراین، نیاز به یک آزمایش سرولوژیکی حساس و اختصاصی برای تشخیص بیماری RA در مراحل اولیه‌ی بیماری وجود دارد. با توجه به این که سیر RA در بیماران مختلف متفاوت است، چنانچه این آزمایش با شدت و فعالیت بیماری نیز ارتباط داشته باشد و قادر به پیش‌گویی سیر بیماری نیز

۱- استادیار، گروه داخلی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قم، قم، ایران

۲- دانشجوی پزشکی، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قم، قم، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: محسن نوروزی

ویتامین D برای اولین بار، به عنوان یک رژیم تغذیه‌ای برای نرمی استخوان در اوایل قرن بیستم شناسایی شد و به طور گسترده به عنوان یک ترکیب با اثرات درمانی نرمی استخوان در نظر گرفته شد. از نظر شیمیایی، ویتامین D مشتق استروئید است (۱۶).

ویتامین D سبب تعادل الگوی TH1/TH2 (T helper1) می‌گردد. این کار، با تأثیر منفی بر سلول‌های TH1 یا اثر تنظیمی مثبت بر سلول‌های TH2 اعمال می‌شود (۱۷). با توجه به این حقیقت که ویتامین D به عنوان یکی از عوامل دخیل در روند بسیاری از بیماری‌های خود ایمن شناخته شده است (۱۸)، فرضیه‌ی احتمال اثر ویتامین D در روند بیماری آرتریت روماتوئید تقویت می‌شود (۱۹).

در مطالعه‌ی مقطعی اصالت منش و همکاران بر روی ۱۰۸ بیمار مبتلا به RA (۲۰) و همچنین، در مطالعه‌ی فخران و همکاران بر روی ۷۵ بیمار مبتلا به RA، نشان دادند که سطح سرمی ویتامین D رابطه‌ی معکوسی با فعالیت RA دارد (۲۱). از طرفی، در مطالعات صاحب‌اری و همکاران و نیز Gopinath و همکاران، نتایجی در راستای عدم وجود ارتباط ویتامین D و شدت بیماری گزارش گردید (۲۲-۲۳).

با توجه به اهمیت بالینی و شیوع قابل توجه بیماری RA و رابطه‌ی قابل پیش‌بینی ویتامین D در پاتوفیزیولوژی و شدت بیماری RA، مطالعه‌ی حاضر با هدف ارزیابی و تفسیر رابطه‌ی سطح سرمی ویتامین D در افراد مبتلا به آرتریت روماتوئید با شدت بیماری RA انجام شد تا در صورت تأیید آن در این مطالعه و مطالعات بیشتر، بتوان از تجویز ویتامین D<sub>3</sub> در کنترل التهاب و شدت بیماری و افزایش کیفیت زندگی در بیماران آرتریت روماتوئید کمک گرفت.

مطالعه‌ی حاضر، یک مطالعه‌ی توصیفی- تحلیلی و از نوع مقطعی بود که با هدف بررسی ارتباط سطح سرمی ویتامین D با شدت بیماری در بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید مراجعه کننده به کلینیک روماتولوژی بیمارستان آیت‌اله گلپایگانی شهر قم در ۶ ماه دوم سال ۱۳۹۴ انجام شد.

### روش‌ها

معیارهای ورود به مطالعه شامل بیماران دارای حداقل معیار مورد نیاز برای تشخیص آرتریت روماتوئید بر اساس معیارهای تجدید نظر شده‌ی کالج روماتولوژی آمریکا (۲۴) که توسط پزشک فوق تخصص روماتولوژی ارزیابی شد، داشتن حداقل مدرک تحصیلی سوم راهنمایی، سکونت در شهر قم و رضایت داوطلب برای شرکت در پژوهش بودند.

معیارهای خروج از مطالعه شامل ابتلا به بیماری‌های مزمن کلیوی یا کبدی، سوء تغذیه یا سوء جذب بیماران (آلبومین کمتر از ۲/۲ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر، کلسترول کمتر از ۱۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر و شاخص توده‌ی بدنی کمتر از ۱۸/۵ کیلوگرم بر مترمربع)،

این مطالعه، پس از تصویب طرح در معاونت پژوهشی و کمیته‌ی اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم و پس از توضیح در مورد اهداف پژوهش، محرمانه ماندن اطلاعات، عدم تحمیل هزینه به شرکت کنندگان و کسب رضایت از آنان، آغاز شد.

در نهایت، پس از جمع‌آوری اطلاعات مورد نیاز، از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۶ (version 16, SPSS Inc., Chicago, IL) جهت واکاوی داده‌ها استفاده شد. برای متغیرهای کمی، میانگین و انحراف معیار و برای متغیرهای کیفی فراوانی و درصد فراوانی محاسبه شد. از آزمون‌های  $t$  Independent و ANOVA برای بررسی ارتباط‌های آماری موجود بین متغیرها استفاده گردید و  $P < 0/05$  به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

مطالعه‌ی حاضر، یک مطالعه‌ی توصیفی- تحلیلی و از نوع مقطعی بود که با هدف بررسی ارتباط سطح سرمی ویتامین D با شدت بیماری در بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید مراجعه کننده به کلینیک روماتولوژی بیمارستان آیت‌اله گلپایگانی شهر قم در ۶ ماه دوم سال ۱۳۹۴ انجام شد.

معیارهای ورود به مطالعه شامل بیماران دارای حداقل معیار مورد نیاز برای تشخیص آرتریت روماتوئید بر اساس معیارهای تجدید نظر شده‌ی کالج روماتولوژی آمریکا (۲۴) که توسط پزشک فوق تخصص روماتولوژی ارزیابی شد، داشتن حداقل مدرک تحصیلی سوم راهنمایی، سکونت در شهر قم و رضایت داوطلب برای شرکت در پژوهش بودند.

معیارهای خروج از مطالعه شامل ابتلا به بیماری‌های مزمن کلیوی یا کبدی، سوء تغذیه یا سوء جذب بیماران (آلبومین کمتر از ۲/۲ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر، کلسترول کمتر از ۱۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر و شاخص توده‌ی بدنی کمتر از ۱۸/۵ کیلوگرم بر مترمربع)،



جدول ۱. جدول توافقی (تعداد، درصد سطری و درصد ستونی) رابطه‌ی ویتامین D و شدت بیماری

مقدار P	تعداد (درصد در شدت بیماری)				DAS 28-ESR	ویتامین D
	کل	شدید	متوسط	خفیف		
۰/۵۷۰	۱۹ (۱۵/۸)	۹ (۱۶/۷)	۹ (۱۷/۶)	۱ (۶/۷)		کمتر از حد طبیعی
	۸۱ (۶۷/۵)	۳۵ (۶۴/۸)	۳۳ (۶۴/۷)	۱۳ (۸۶/۷)		طبیعی
	۲۰ (۱۶/۷)	۱۰ (۱۸/۵)	۹ (۱۷/۶)	۱ (۶/۷)		بیشتر از حد طبیعی
	۱۲۰ (۱۰۰)	۵۴ (۱۰۰)	۵۱ (۱۰۰)	۱۵ (۱۰۰)		کل

DAS 28-ESR: Disease activity score 28-Erythrocyte sedimentation rate

گروه‌هایی با تعداد کمتر و یا بیشتر مفاصل دردناک و متورم نداشت. در واقع، بدون توجه به سطح ویتامین D بیماران، در اغلب افراد، بیشتر از ۳ مفصل دردناک وجود داشت. این مطلب در مورد تعداد مفاصل متورم برعکس بود؛ یعنی بدون توجه به سطح ویتامین D، تعداد مفاصل متورم در اغلب افراد، کمتر از ۳ مفصل بود.

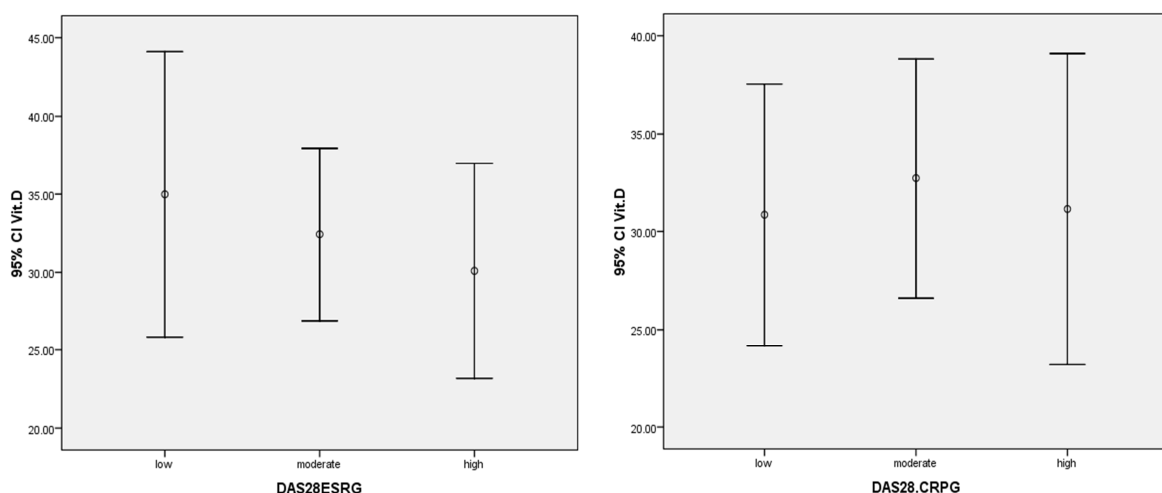
نتایج حاکی از آن بود که در مقایسه‌ی DAS 28-ESR و DAS 28-CRP ( $P = ۰/۴۷۰$ ) و سطح سرمی ویتامین D، ارتباط معنی‌داری مشاهده نشد. در شکل ۱، میانگین و انحراف معیار سطح سرمی ویتامین D در ۳ سطح فعالیت بیماری نشان داده شده است.

نتایج این مطالعه نشان داد که با افزایش شدت بیماری، میانگین تعداد مفاصل دردناک و متورم نیز افزایش می‌یابد و همچنین، میانگین ESR و CRP نیز با افزایش شدت بیماری افزایش می‌یابد (جدول ۲). از طرفی، عدم همبستگی سطح سرمی ویتامین D و شدت بیماری در این مطالعه مشاهده شد (شکل ۲).

## یافته‌ها

در این مطالعه، تعداد ۱۲۰ بیمار مبتلا به آرتریت روماتوئید مورد بررسی قرار گرفتند که از این میان، ۲۸ نفر (۳۳/۳ درصد) مرد و ۹۲ نفر (۷۶/۷ درصد) زن بودند و میانگین سنی بیماران  $۴۸/۲۶ \pm ۱۳/۲۸$  سال بود. سطح سرمی ویتامین D در ۱۹ نفر (۱۵/۸ درصد) کمتر از حد طبیعی، در ۸۱ نفر (۶۷/۵ درصد) طبیعی و در ۲۰ نفر (۱۶/۷ درصد) بیشتر از حد طبیعی به دست آمد. فعالیت بیماری بر اساس معیار DAS 28-ESR برای ۵۴ نفر (۴۵/۰ درصد) شدید، برای ۵۱ نفر (۴۲/۵ درصد) متوسط و برای ۱۵ نفر (۱۲/۵ درصد) خفیف گزارش شد. در بررسی ارتباط بین فعالیت بیماری بر اساس معیار DAS 28-ESR و سطح سرمی ویتامین D، تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۱).

بین سطح سرمی ویتامین D و تعداد مفاصل دردناک و متورم ارتباط آماری معنی‌داری مشاهده نشد ( $P < ۰/۰۵۰$ )؛ به این صورت که سطح سرمی ویتامین D، تأثیری در طبقه‌بندی بیماران در



شکل ۱. نمودار خطا (Error bar) برای مقدار سرمی ویتامین D در سطوح مختلف فعالیت بیماری بر اساس دو معیار

(CRP) C-reactive protein و (ESR) Erythrocyte sedimentation rate

جدول ۲. نتایج آزمون ANOVA در بررسی رابطه شدت بیماری و سن، تعداد مفاصل دردناک، تعداد مفاصل متورم و سایر پارامترها

VAS	CRP	ESR	مفاصل متورم	مفاصل دردناک	ویتامین D (ng/ml)	سن (سال)	DAS 28- ESR
میانگین ± انحراف معیار							
۱/۴۰ ± ۰/۶۳	۸/۶۱ ± ۸/۵۷	۱۵/۰۷ ± ۹/۱۲	۱/۰۷ ± ۰/۲۶	۱/۲۰ ± ۰/۵۶	۳۴/۹۸ ± ۱۶/۴۸	۵۰/۰۷ ± ۱۰/۰۱	خفیف (۱۵)
۳/۵۸ ± ۱/۸۵	۱۱/۲۵ ± ۸/۷۱	۳۰/۰۰ ± ۱۵/۹۸	۱/۶۷ ± ۱/۱۱	۳/۶۷ ± ۳/۰۸	۳۲/۴۳ ± ۱۹/۶۷	۴۹/۲۲ ± ۱۳/۶۸	متوسط (۵۱)
۶/۴۴ ± ۱/۷۸	۱۶/۳۱ ± ۱۴/۶۶	۳۶/۵۴ ± ۲۶/۴۱	۴/۰۹ ± ۳/۴۶	۱۷/۳۷ ± ۷/۶۳	۳۰/۰۹ ± ۲۵/۳۸	۴۶/۸۵ ± ۱۳/۷۵	شدید (۵۴)
۰/۰۰۱	۰/۰۲۷	۰/۰۰۲	< ۰/۰۰۱	< ۰/۰۰۱	۰/۷۲۰	۰/۵۶۰	P مقدار

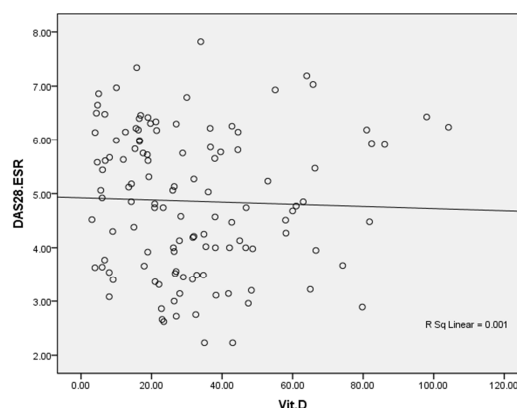
DAS 28-ESR: Disease activity score 28-Erythrocyte sedimentation rate; CRP: C-reactive protein; ESR: Erythrocyte sedimentation rate; VAS: Visual analog scale

یافته هستند (۲۹-۳۰، ۲۶، ۲۱). البته، از طرفی برخی مطالعات نتایجی مشابه نتایج مطالعه حاضر در راستای عدم وجود ارتباط معنی دار بین شدت بیماری آرتریت روماتوئید با سطح سرمی ویتامین D گزارش نموده‌اند (۳۱، ۲۲)؛ به طوری که حتی در مطالعات کارآزمایی بالینی Gopinath و Danda (۲۳) و نیز Salesi و همکاران (۲۷)، نتایج به عدم ارتباط بین ویتامین D و شدت بیماری آرتریت روماتوئید اشاره دارد. در توجیه تفاوت نتایج این مطالعه با برخی مطالعات، می‌توان به تفاوت نژادی و آب و هوایی و همچنین، سبک زندگی و فرهنگ متفاوت در زمینه رژیم غذایی و نوع و نحوه استفاده‌ی منظم و دقیق رژیم دارویی در بیماران مختلف اشاره کرد.

در مطالعه حاضر، بین سطح سرمی ویتامین D و تعداد مفاصل دردناک و ملتهب ارتباط معنی داری مشاهده نشد. این در حالی است که در مطالعه‌ی عباسی و همکاران، نتایج بر خلاف یافته‌های مطالعه‌ی حاضر در این راستا گزارش شده است (۲۶) و از آن جایی که یکی از شکایت‌های اصلی بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید، شکایت از دردناک بودن و ملتهب بودن مفاصل می‌باشد، توجه به این موضوع بسیار حایز اهمیت است که پی‌گیری کوتاه مدت بیماران، می‌تواند دلیل این تفاوت باشد و چه بسا در صورت مداخله با مکمل‌های ویتامین D و یا حتی دز معمول ویتامین D و پی‌گیری طولانی‌تر بیماران، ارتباط معنی داری در این زمینه را بتوان شناسایی کرد.

از محدودیت‌های این مطالعه، می‌توان به عدم وجود گروه شاهد برای مقایسه‌ی بهتر و دقیق‌تر با گروه بیماران و همچنین، عدم پی‌گیری طولانی‌تر بیماران اشاره کرد. از طرفی، در صورتی که این مطالعه به صورت کارآزمایی بالینی به روش مورد-شاهدی و به صورت مداخله با تجویز ویتامین D و پی‌گیری حداقل ۶-۱۲ ماه بر روی تعداد بیشتری از بیماران انجام می‌شد، به طور قطعی نتایج بهتر و دقیق‌تری حاصل می‌شد.

در مجموع، نتایج این مطالعه نشان داد که بین شدت بیماری آرتریت روماتوئید با سطح سرمی ویتامین D، ارتباط معنی داری وجود ندارد و از آن جایی که مطالعات زیادی در این زمینه انجام شده و



شکل ۲. نمودار پراکنش سطح سرمی ویتامین D و شدت بیماری

## بحث

اگر چه نقش ویتامین D در بعضی از بیماری‌های خود ایمن ثابت شده است (۱۸)، اما با این وجود، هنوز نتایج دقیق و کاملی در خصوص نقش ویتامین D در خصوص شدت بیماری آرتریت روماتوئید به دست نیامده است و مطالعات مختلف، نتایج مختلفی در این زمینه گزارش کرده‌اند.

در این مطالعه، کمبود ویتامین D (کمتر از ۱۰ نانوگرم در میلی‌لیتر) در ۱۹ نفر (۱۵/۸ درصد) از شرکت کنندگان در این مطالعه گزارش شد. در بیشتر مطالعات مختلفی که در این زمینه انجام شده است، شیوع کمبود ویتامین D در بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید بیشتر بوده است (۲۷-۲۶، ۲۲-۲۱) که یکی از دلایل این تفاوت، می‌تواند ناشی از کیت آزمایشگاهی متفاوت در مطالعات مختلف بوده باشد؛ به طوری که کمبود ویتامین D در بعضی مطالعات در سطح کمتر از ۳۰ نانوگرم در میلی‌لیتر تعریف شده بود (۲۶).

نتایج مطالعه حاضر، نشان داد که بین شدت بیماری آرتریت روماتوئید با سطح سرمی ویتامین D ارتباط معنی داری وجود ندارد. در مطالعه‌ی Turhanoglu و همکاران، نتایج حاکی از آن بود که ارتباط معکوس معنی داری بین شدت بیماری آرتریت روماتوئید با سطح سرمی ویتامین D وجود دارد (۲۸)؛ مطالعات زیادی مؤید این

## تشکر و قدردانی

این مقاله، حاصل طرح مصوب شده در دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم می‌باشد و بودجه‌ی اجرای آن توسط این دانشگاه تأمین شده است. از این‌رو، نویسندگان مراتب تشکر و قدردانی خود را از معاونت پژوهشی و کارکنان واحد پژوهش این دانشگاه اعلام می‌دارند.

نتایج متناقضی در آن‌ها گزارش شده است، در نهایت پیشنهاد می‌شود با توجه به شیوع، اهمیت و عوارض بیماری آرتریت روماتوئید، مطالعات بیشتر، دقیق‌تر و کامل‌تری در این زمینه انجام شود تا گروه‌های بهداشتی-درمانی بتوانند نتیجه‌گیری دقیقی در خصوص رویکرد پیش‌گیرانه و درمانی در زمینه ارتباط ویتامین D و شدت بیماری در بیماران آرتریت روماتوئید، اتخاذ نمایند.

## References

1. Valdimarsson H, Jonsson T. Predictive value of rheumatoid factor isotypes for radiological progression in patients with rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol* 1996; 25(3): 189-90.
2. van Boekel MA, Vossenaar ER, van den Hoogen FH, van Venrooij WJ. Autoantibody systems in rheumatoid arthritis: specificity, sensitivity and diagnostic value. *Arthritis Res* 2002; 4(2): 87-93.
3. Kaslow RA, Stanberry LR, Le Duc JW. Viral infections of humans: epidemiology and control. 5<sup>th</sup> ed. New York, NY: Springer; 2014.
4. Hirata S, Tanaka Y. New assessment method in rheumatoid arthritis. *Nihon Rinsho* 2016; 74(6): 931-7. [In Japanese].
5. Schellekens GA, Visser H, de Jong BA, van den Hoogen FH, Hazes JM, Breedveld FC, et al. The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing a cyclic citrullinated peptide. *Arthritis Rheum* 2000; 43(1): 155-63.
6. Sucilathangam G, Smiline G, Velvizhi G, Revathy C. Use of Serological markers for evaluation of patients with Rheumatoid arthritis. *Int J Curr Microbiol App Sci* 2015; 4(9): 61-6.
7. Salvador G, Sanmarti R, Gil-Torregrosa B, Garcia-Peiro A, Rodriguez-Cros JR, Canete JD. Synovial vascular patterns and angiogenic factors expression in synovial tissue and serum of patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 2006; 45(8): 966-71.
8. Holick MF, Chen TC. Vitamin D deficiency: a worldwide problem with health consequences. *Am J Clin Nutr* 2008; 87(4): 1080S-6S.
9. Agmon-Levin N, Kivity S, Tzioufas AG, Lopez HM, Rozman B, Efes I, et al. Low levels of vitamin-D are associated with neuropathy and lymphoma among patients with Sjogren's syndrome. *J Autoimmun* 2012; 39(3): 234-9.
10. Giovannucci E. Vitamin D and cancer incidence in the Harvard cohorts. *Ann Epidemiol* 2009; 19(2): 84-8.
11. Twig G, Shina A, Amital H, Shoenfeld Y. Pathogenesis of infertility and recurrent pregnancy loss in thyroid autoimmunity. *J Autoimmun* 2012; 38(2-3): J275-J281.
12. Sood A, Arora R. Vitamin D deficiency and its correlations with increased cardiovascular incidences. *Am J Ther* 2010; 17(4): e105-e109.
13. Qazi RA, Martin KJ. Vitamin D in kidney disease: pathophysiology and the utility of treatment. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2010; 39(2): 355-63, table.
14. Pittas AG, Dawson-Hughes B. Vitamin D and diabetes. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2010; 121(1-2): 425-9.
15. Hajas A, Sandor J, Csathy L, Csipo I, Barath S, Paragh G, et al. Vitamin D insufficiency in a large MCTD population. *Autoimmun Rev* 2011; 10(6): 317-24.
16. Holick MF, MacLaughlin JA, Clark MB, Holick SA, Potts JT, Jr., Anderson RR, et al. Photosynthesis of previtamin D3 in human skin and the physiologic consequences. *Science* 1980; 210(4466): 203-5.
17. Azzeh FS. Relationship between vitamin D and rheumatoid arthritis disease. *Pak J Nutr* 2012; 11(3): 293-300.
18. Arnson Y, Amital H, Shoenfeld Y. Vitamin D and autoimmunity: new aetiological and therapeutic considerations. *Ann Rheum Dis* 2007; 66(9): 1137-42.
19. Ishikawa LL, Colavite PM, Fraga-Silva TF, Mimura LA, Franca TG, Zorzella-Pezavento SF, et al. Vitamin D deficiency and rheumatoid arthritis. *Clin Rev Allergy Immunol* 2016.
20. Esalatmanesh K, Taghadosi M, Arj A, Matini M, Moravveji SA, Nasiri O, et al. Relevance of serum vitamin D level and the disease activity in rheumatoid arthritis. *Feyz* 2011; 14(4): 414-9. [In Persian].
21. Fakharan M, Haghghi A, Arabi M, Loghman M. Investigating the levels of serum vitamin d in patients with rheumatoid arthritis referred to rasoul-akram hospital during 2011-2012. *Iran J Med Sci* 2014; 39(5): 476-9.
22. Sahebari M, Mirfeizi Z, Rezaieyazdi Z, Rafatpanah H, Goshyeshi L. 25(OH) vitamin D serum values and rheumatoid arthritis disease activity (DA S28 ESR). *Caspian J Intern Med* 2014; 5(3): 148-55.
23. Gopinath K, Danda D. Supplementation of 1,25 dihydroxy vitamin D3 in patients with treatment naive early rheumatoid arthritis: a randomised controlled trial. *Int J Rheum Dis* 2011; 14(4): 332-9.
24. Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, Funovits J, Felson DT, Bingham CO 3<sup>rd</sup>, et al. 2010 rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Ann Rheum Dis* 2010; 69(9): 1580-8.
25. van Riel PL, Renskers L. The Disease Activity Score (DAS) and the Disease Activity Score using 28 joint counts (DAS28) in the management of rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol* 2016; 34 Suppl 101(5): 40-4.

26. Abbasi M, Farzam SA, Yazdi Z, Akbari A. Relationship between serum vitamin D level and severity of rheumatoid arthritis. *J Qazvin Univ Med Sci* 2014; 17(5): 25-31. [In Persian].
27. Salesi M, Farajzadegan Z, Karimifar M. Is vitamin D effective on the disease activity index (DAS28) in rheumatoid arthritis? *J Isfahan Med Sch* 2011; 29(129): 180-7. [In Persian].
28. Turhanoglu AD, Guler H, Yonden Z, Aslan F, Mansuroglu A, Ozer C. The relationship between vitamin D and disease activity and functional health status in rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int* 2011; 31(7): 911-4.
29. Kostoglou-Athanassiou I, Athanassiou P, Lyraki A, Raftakis I, Antoniadis C. Vitamin D and rheumatoid arthritis. *Ther Adv Endocrinol Metab* 2012; 3(6): 181-7.
30. Rossini M, Maddali BS, La Montagna G, Minisola G, Malavolta N, Bernini L, et al. Vitamin D deficiency in rheumatoid arthritis: prevalence, determinants and associations with disease activity and disability. *Arthritis Res Ther* 2010; 12(6): R216.
31. Costenbader KH, Feskanich D, Holmes M, Karlson EW, Benito-Garcia E. Vitamin D intake and risks of systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis in women. *Ann Rheum Dis* 2008; 67(4): 530-5.

## The Serum Level of Vitamin D and its Association with Disease Severity in Patients with Rheumatoid Arthritis

Mohsen Noroozi<sup>1</sup>, Mehdi Gholamzadeh-Baeis<sup>2</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** Rheumatoid arthritis is a chronic, progressive inflammatory disease that causes pain, stiffness, swelling and destruction of the articular tissues. This study aimed to evaluate the relationship between serum levels of vitamin D and disease severity in patients with rheumatoid arthritis.

**Methods:** In this descriptive-analytic-sectional study was conducted in the city of Qom, Iran, 120 patients were enrolled based on the evaluation and consideration of inclusion and exclusion criteria using convenience sampling method. The activity or severity of disease was determined based on the disease activity score 28 (DAS28) criteria.

**Findings:** 92 patients (76.7%) were women and the mean age of the patients was  $48.26 \pm 13.28$  years. The serum vitamin D level was lower than normal in 19 patients (15.8%). The severity of the disease was reported as severe in 54 patients (45%), average in 51 patients (42.5%) and minor in 15 patients (12.5%). There was no significant relationship between the disease activity based on criteria and serum level of vitamin D ( $P > 0.05$ ).

**Conclusion:** According to the frequency and importance and effects of rheumatoid arthritis, more and more accurate and complete studies should be done in this area; then, the health departments can conclude details of preventive and curative approach in the context of the relationship between vitamin D and disease activity in patients with rheumatoid arthritis.

**Keywords:** Rheumatoid arthritis, Disease activity, Rheumatism, Vitamin D, Disease activity score 28 (DAS28)

**Citation:** Noroozi M, Gholamzadeh-Baeis M. **The Serum Level of Vitamin D and its Association with Disease Severity in Patients with Rheumatoid Arthritis.** J Isfahan Med Sch 2017; 34(405): 1311-7.

1- Assistant Professor, Department of Internal Medicine, Qom Branch, Islamic Azad University, Qom, Iran

2- Student of Medicine, Young Researchers and Elites Club, Qom Branch, Islamic Azad University, Qom, Iran

**Corresponding Author:** Mohsen Noroozi, Email: dr.m.noroozi@gmail.com

## درمان لیشمانیوز جلدی مقاوم به گلوکانتیم با درمان توأم آلپورینول و تری کلرو استیک اسید ۵۰ درصد؛ گزارش سه مورد

گیتی صادقیان<sup>۱</sup>، فاطمه سخنوری<sup>۲</sup>

### گزارش مورد

#### چکیده

**مقدمه:** لیشمانیوز، بیماری قابل انتقال از حشرات است و در مجموع، ۸۸ کشور درگیر آن می‌باشند. در این بیماری و در صورت عدم بهبودی با داروی انتخابی گلوکانتیم از روش‌های درمانی دیگری مانند کرایوتراپی و ترموتراپی و یا داروهایی مانند آلپورینول، پنتامیدین و آمفوترسین استفاده می‌شود. از جمله درمان‌های دیگر که در مطالعات انجام شده تأثیر به‌سزایی در درمان داشته است، استفاده از محلول تری کلرو استیک اسید (TCA یا Trichloroacetic acid) با غلظت ۵۰ درصد می‌باشد.

**گزارش مورد:** در این مطالعه، سه مورد (دو زن و یک مرد) مبتلا به لیشمانیوز جلدی مقاوم به گلوکانتیم با درمان توأم آلپورینول و TCA ۵۰ درصد گزارش شدند. **نتیجه‌گیری:** با توجه به نتایج، استفاده از این دو دارو به صورت هم‌زمان، می‌تواند در موارد مقاوم به گلوکانتیم و همچنین، به عنوان یک درمان جایگزین مطرح گردد.

**واژگان کلیدی:** لیشمانیوز جلدی، گلوکانتیم، تری کلرو استیک اسید ۵۰ درصد، آلپورینول

**ارجاع:** صادقیان گیتی، سخنوری فاطمه. درمان لیشمانیوز جلدی مقاوم به گلوکانتیم با درمان توأم آلپورینول و تری کلرو استیک اسید ۵۰ درصد؛

گزارش سه مورد. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۵؛ ۳۴ (۴۰۵): ۱۳۲۲-۱۳۱۸

#### مقدمه

لیشمانیوز، بیماری قابل انتقال از حشرات است و در مجموع، ۸۸ کشور درگیر آن می‌باشند که ۷۵ مورد آن کشورهای در حال توسعه هستند. بیماری به اشکال احشایی، جلدی و جلدی-مخاطی دیده می‌شود و سالیانه ۱-۱/۵ میلیون نفر مبتلا به لیشمانیوز جلدی بروز می‌کند (۱). لیشمانیوز جلدی، شیوع بالایی در ایران دارد. در بین سال‌های ۱۳-۲۰۱۲، در مجموع ۳۷۰۰۱ مورد بیماری گزارش شده است که حاکی از بروز ۲۵ در ۱۰۰۰۰۰ نفر جمعیت است. ۷۲ درصد این موارد، در مناطق آندمیک زندگی می‌کنند (۲). ماهیت مقاومت دارویی انگل، به طور دقیق شناخته نشده است. بعضی از سویه‌های انگل لیشمانیا به طور ذاتی نسبت به درمان مقاوم هستند (۳-۴).

برخی از محققین، این مقاومت دارویی را به تفاوت‌های فارماکوکینتیک دارو یا تفاوت‌های سیستم ایمنی بیمار نسبت می‌دهند، در حالی که برخی دیگر استفاده از دزهای ناکافی و یا مکرر دارو را مسؤول عدم بهبودی و بروز مقاومت آزمایشگاهی قلمداد می‌کنند.

(۳). در صورت عدم بهبودی بیماری با داروی انتخابی (ترکیبات آنتی‌مون)، از روش‌های درمانی مانند کرایوتراپی و ترموتراپی استفاده می‌شود و یا داروهای دیگری مانند آلپورینول، پنتامیدین و آمفوترسین تجویز می‌شوند (۵). از جمله درمان‌های دیگر که در مطالعات انجام شده تأثیر به‌سزایی در درمان داشته است، استفاده از محلول محلول تری کلرو استیک اسید (TCA یا Trichloroacetic acid) با غلظت ۵۰ درصد است. در بین درمان‌های جایگزین، آلپورینول خوراکی ارزان و مقرون به صرفه است. این دارو، در محیط آزمایشگاهی بر سویه‌های مختلف انگل مؤثر می‌باشد و به علت راه تجویز مناسب، استفاده از آن توصیه می‌شود (۶).

آلپورینول با انحراف سنتز نوکلئوتیدهای حیاتی و مهار بازهای پورین که برای ادامه‌ی حیات انگل ضروری است، موجب انهدام انگل می‌شود (۷-۸). در منطقه‌ی هایپراندمیکمانند اصفهان، نشان داده شد که تجویز آلپورینول به همراه گلوکانتیم تأثیری بیش از گلوکانتیم به تنهایی در درمان لیشمانیوز مازور داشته است و حتی

۱- متخصص پوست، مرکز تحقیقات بیماری‌های پوستی و سالک، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- پزشک عمومی، مرکز تحقیقات بیماری‌های پوستی و سالک، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: گیتی صادقیان

Email: gity\_sadeghian@yahoo.com

گلوکانتیم دریافت کرده بود و به دنبال عدم بهبود، یک دوره نیز با فلوکونازول و آزیترومایسین درمان شده بود که نتیجه‌ای نداشت. در زمان مراجعه، ضایعه‌ای با اندازه‌ی  $6 \times 5$  سانتی‌متر مربع به شکل پلاک اریتماتو بر روی بازوی سمت راست به همراه ندول‌های اقماری و فرم اسپوروتریکوئید و ایندوراسیون +++ داشت. درمان با محلول TCA ۵۰ درصد شروع شد. هفته‌ی دوم، بیمار ویزیت شد که عدم بهبود داشت. شروع درمان با آلپورینول به میزان ۱۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به مدت ۶ هفته همراه با محلول TCA ۵۰ درصد، هفته‌ی سوم بهبود نسبی با کوچک‌تر شدن اندازه‌ی ضایعه دیده شد و درمان ادامه یافت. در هفته‌ی چهارم، بهبود نسبی با کوچک‌تر شدن اندازه‌ی ضایعه، برطرف شدن فرم اسپوروتریکوئید و ایندوراسیون ++ دیده شد. به بیمار توصیه شد درمان را ادامه دهد. بیمار، دو هفته‌ی بعد، با ایندوراسیون ۰ مراجعه کرد و بهبود کامل داشت.

مورد سوم: زن، ۶۰ ساله، ساکن اصفهان (ورزنه) و محل آلودگی ورزنه بود. زمان شروع بیماری، ۶ ماه قبل از مراجعه، پذیرش اول با ضایعه‌ای با فرم اریزپلوئید با ایندوراسیون +++ بر روی بینی مراجعه کرد. وی در قبل از مراجعه به این مرکز، ۴۰ عدد آمپول گلوکانتیم دریافت کرد و پس از آن، درمان با آنتی‌بیوتیک هم برای وی انجام شده بود، با وجود درمان ضایعه‌ی اولیه که به شکل پلاک بوده بزرگ‌تر شده و به شکل اریزپلوئید در آمده بود. شروع درمان با آلپورینول به میزان ۱۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به مدت ۶ هفته همراه با محلول TCA ۵۰ درصد بود. یک هفته پس از شروع درمان بهبود نسبی با کوچک‌تر شدن ضایعه مشاهده شد. درمان ادامه یافت و دو هفته‌ی بعد بیمار مراجعه کرد. ضایعه‌ی کوچک‌تر شد و ایندوراسیون ++ بود. درمان ادامه یافت. سه هفته بعد، بیمار مراجعه کرد و بهبود کامل داشت.

### بحث

بیماری لیشمانیوز (سالک) بیماری خودبه‌خود بهبود یابنده‌ای است که بر حسب نوع آن، ۹۰ درصد بیماران در عرض ۶ ماه تا یک سال بهبودی می‌یابند. با وجود بهبود خودبه‌خودی بیماری، اسکار بر جای مانده از این بیماری، می‌تواند مشکلات روحی و اجتماعی زیادی را برای این بیماران ایجاد کند. استفاده از آلپورینول در درمان بیماری، از سال‌ها قبل مرسوم بوده است و آلپورینول، به صورت همراه با ترکیبات آنتی‌موان، نتایج خوبی در بهبود بیماری داشته است. در مطالعه‌ی تأثیر آلپورینول به همراه استیوگلوکونات، مشاهده شد که مصرف استیوگلوکونات به تنهایی میزان بهبود ۳۹ درصد داشته است و هم‌زمانی مصرف آن با آلپورینول، این میزان را به ۷۱ درصد رساند (۹). همچنین، در مطالعه‌ی دیگری که جهت بررسی تأثیر هم‌زمان

می‌توان دز مصرف گلوکانتیم را به میزان نصف استفاده نمود (۹). مصرف TCA ۵۰ درصد به تنهایی و یا همراه با گلوکانتیم در مطالعات انجام شده، تأثیر قابل مشاهده‌ای در درمان بیماران داشته است. در مطالعات انجام شده در مقاطع مختلف و اشکال متفاوت، تأثیر TCA ۵۰ درصد بر درمان قابل مشاهده است (۱۱-۱۰). در مطالعه‌ی دیگری که بر روی یک مورد سالک لوپوئید انجام گردید، بهبود قابل ملاحظه‌ای با درمان موضعی با TCA ۵۰ درصد دیده شد (۱۰).

در مطالعه‌ی حاضر، سه بیمار که از طریق اسمیر مستقیم و دیده شدن جسم لیشمن زیر میکروسکوپ مثبت اعلام شدند و به درمان گلوکانتیم پاسخ ندادند، تحت درمان با ترکیب آلپورینول و TCA ۵۰ درصد قرار گرفتند.

### گزارش مورد

مورد اول: زن، ۳۹ ساله، ساکن اصفهان و آلوده شده در مناطق سالک‌خیز اطراف اصفهان بود. زمان شروع بیماری، ۱/۵ ماه قبل از آزمایش، پذیرش اول ضایعه به صورت ندول اریتماتو بر روی انگشت شست پای راست با اندازه‌ی  $1 \times 0/5$  سانتی‌متر و ایندوراسیون +++ بود که درمان با محلول TCA ۵۰ درصد شروع شد. در ویزیت دوم، بیمار بهبودی نداشت، اندازه‌ی ضایعه بزرگ‌تر شده بود و درمان به شکل سیستمیک با آمپول گلوکانتیم شروع شد. بیمار، پس از تزریق ۵ آمپول با وجود بهبود نسبی، به دارو حساسیت نشان داد و درمان قطع شد و برای بیمار بار دیگر درمان با محلول TCA ۵۰ درصد شروع گردید. در ویزیت هفته‌ی چهارم، عدم بهبودی سبب گردید ادامه‌ی درمان با محلول TCA ۵۰ درصد انجام شود. هفته‌ی پنجم، بیمار عدم بهبودی داشت و ادامه‌ی درمان با TCA ۵۰ درصد انجام شد. هفته‌ی ششم، دو عدد ندول جدید روی پای راست ایجاد و درمان با آنتی‌بیوتیک (آزیترومایسین و فلوکونازول) شروع شد. به همراه محلول TCA ۵۰ درصد، هفته‌ی هفتم بیمار عدم بهبود داشت و ایجاد فرم اسپوروتریکوئید مشاهده گردید. درمان با آلپورینول به میزان ۱۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به مدت ۶ هفته همراه با محلول TCA ۵۰ درصد (به صورت موضعی با سواپ هفته‌ای یک بار تا سفید شدن ۱ میلی‌متر حاشیه‌ی اطراف ضایعه) شروع گردید. هفته‌ی هشتم (هفته‌ی اول پس از شروع درمان با آلپورینول) بیمار ویزیت شد و بهبود نسبی داشت، فرم اسپوروتریکوئید برطرف و ایندوراسیون ++ شد. هفته‌ی نهم (دو هفته پس از شروع درمان با آلپورینول)، بهبود کامل مشاهده گردید. مورد دوم: مرد، ۳۶ ساله، ساکن اصفهان و محل آلودگی فرودگاه شهید بهشتی اصفهان بود. زمان شروع بیماری، ۵ ماه قبل از مراجعه بود. در پذیرش اول، بیمار قبل از مراجعه به مرکز، ۴۰ عدد آمپول

احتمالی آن در از بین بردن انگل یا منابع تغذیه‌ای آن می‌باشد. همچنین، تحریک کلاژن‌سازی و کاهش اسکار، علت دیگری در استفاده از TCA ۵۰ درصد موضعی در درمان سالک است. در مطالعه‌ی نیلفروش‌زاده و همکاران در زمینه‌ی تأثیر TCA ۵۰ درصد به همراه گلوکانتیم سیستمیک و آلپورینول در درمان فرم لوپوئید لیشمانیا در یک مورد، بهبود قابل ملاحظه‌ای دیده شد و پس از یک سال پی‌گیری، علامت قابل مشاهده‌ای نیز بر روی صورت بیمار دیده نشد (۱۰). در مطالعه‌ی دیگری که تأثیر TCA ۵۰ درصد در مقایسه با تزریق موضعی گلوکانتیم بررسی شد، تأثیر این دو درمان یکسان گزارش شد ( $P < 0/050$ ) (۱۱).

در مطالعه‌ی حاضر، از درمان توأم آلپورینول و TCA ۵۰ درصد در سه مورد مقاوم به درمان با گلوکانتیم استفاده گردید. با توجه به نتایج حاصل از درمان این سه مورد، استفاده از این دو دارو به صورت هم‌زمان می‌تواند در موارد مقاوم به گلوکانتیم و همچنین، به عنوان یک درمان جایگزین به خصوص در موارد عدم دسترسی به آمپول گلوکانتیم مطرح گردد.

### تشکر و قدردانی

از کلیه‌ی همکاران مرکز تحقیقات پوست و سالک و بیمارانی که ما را در انجام این مطالعه یاری نمودند، سپاسگزاری می‌گردد. این مطالعه، با حمایت مالی مرکز تحقیقات بیماری‌های پوستی و سالک دانشگاه علوم پزشکی اصفهان انجام شد.

آلپورینول و مگلو مین آنتی‌موان انجام شد، مشاهده گردید که تأثیر هم‌زمان دو دارو، بسیار مؤثرتر از مصرف تنه‌ای گلوکانتیم است ( $P = 0/050$ ) (۱۲). در مطالعه‌ی دیگری که در جهت بررسی تأثیر آلپورینول هم‌زمان با مگلو مین آنتی‌موان با دز پایین انجام شد، تأثیر هم‌زمان دو دارو از تأثیر مگلو مین آنتی‌موان با دز بالا بر روی انگل لیشمانیا ماژور بسیار بیشتر بوده است (۱۳).

مطالعه‌ای بر تأثیر آلپورینول بر پروماستیگوت‌های لیشمانیا تروپیکای مقاوم به گلوکانتیم نیز نشان داد که مکانیسم‌های مقاومت به گلوکانتیم منجر به تغییرات مورفولوژیک و سرعت رشد در پروماستیگوت‌ها شده و آلپورینول موجب کاهش درصد رشد و تعداد در هر دو نوع انگل نوع مقاوم و غیر مقاوم تروپیکا شده است، اما حساسیت پروماستیگوت‌های لیشمانیا تروپیکای مقاوم آزمایشگاهی به آلپورینول بیش از انواع غیر مقاوم بوده است. بر اساس نتایج این مطالعه، آلپورینول به عنوان داروی خوراکی و مقرون به صرفه در درمان نوع غیر مقاوم لیشمانیوز ماژور توصیه می‌گردد، اما استفاده از این دارو به تنهایی در انواع مقاوم توصیه نمی‌شود (۱۴).

TCA ۵۰ درصد به طور معمول به عنوان داروی پیلینگ کننده‌ی پوست مصرف می‌گردد (۱۱). از سوی دیگر، ترکیب TCA ۵۰ درصد به صورت هم‌زمان با داروهای دیگر در درمان سالک نتایج بسیار خوبی داشته است. اثربخشی دارو به علت نفوذ TCA ۵۰ درصد در اپیدرم، درم و محل ارتشاح ماکروفاژهای حاوی انگل و در نتیجه، اثرات

### References

- Desjeux P. Leishmaniasis: current situation and new perspectives. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 2004; 27(5): 305-18.
- World Health Organization. Cutaneous leishmaniasis: control in selected countries of the WHO Eastern Mediterranean and African Regions. Report of an interregional network meeting, Casablanca, Morocco, 23-24 June 2014. Geneva, Switzerland: WHO; 2015.
- Grogl M, Thomason TN, Franke ED. Drug resistance in leishmaniasis: its implication in systemic chemotherapy of cutaneous and mucocutaneous disease. *Am J Trop Med Hyg* 1992; 47(1): 117-26.
- Gramiccia M, Gradoni L, Orsini S. Decreased sensitivity to meglumine antimoniate (Glucantime) of *Leishmania infantum* isolated from dogs after several courses of drug treatment. *Ann Trop Med Parasitol* 1992; 86(6): 613-20.
- Berman JD. Treatment of New World cutaneous and mucosal leishmaniases. *Clin Dermatol* 1996; 14(5): 519-22.
- Martinez S, Marr JJ. Allopurinol in the treatment of American cutaneous leishmaniasis. *N Engl J Med* 1992; 326(11): 741-4.
- Saenz RE, Paz HM, Johnson CM, Marr JJ, Nelson DJ, Pattishall KH, et al. Treatment of American cutaneous leishmaniasis with orally administered allopurinol riboside. *J Infect Dis* 1989; 160(1): 153-8.
- Marr JJ, Berens RL. Antileishmanial effect of allopurinol. II. Relationship of adenine metabolism in leishmania species to the action of allopurinol. *J Infect Dis* 1977; 136(6): 724-32.
- Martinez S, Gonzalez M, Vernaza ME. Treatment of cutaneous leishmaniasis with allopurinol and stibogluconate. *Clin Infect Dis* 1997; 24(2): 165-9.
- Nilforoushzadeh MA, Sadeghian G, Jaffary F, Ziaei H, Shirani-Bidabad L, Mahzoni P. Successful treatment of lupoid cutaneous leishmaniasis with Glucantime and topical trichloroacetic acid (a case report). *Korean J Parasitol* 2008; 46(3): 175-7.
- Nilforoushzadeh MA, Jaffary F, Reiszadeh MR. Comparative effect of topical trichloroacetic acid and intralesional meglumine antimoniate in the treatment of acute cutaneous leishmaniasis. *Int J Pharmacol* 2006; 2(6): 633-6.
- Esfandiarpour I, Alavi A. Evaluating the efficacy of allopurinol and meglumine antimoniate (Glucantime)



- in the treatment of cutaneous leishmaniasis. *Int J Dermatol* 2002; 41(8): 521-4.
13. Momeni AZ, Reiszadae MR, Aminjavaheri M. Treatment of cutaneous leishmaniasis with a combination of allopurinol and low-dose meglumine antimoniate. *Int J Dermatol* 2002; 41(7): 441-3.
14. Shamsi Meymandi S, Dabiri S, Bahreini M. Effect of Allopurinol on L. Major Promastigots resistant to Glucantim in vitro. *J Kerman Univ Med Sci* 2003; 10(3): 158-65. [In Persian].

## Treatment of Glucantim™-Resistant Cutaneous Leishmaniasis Using Combination Therapy of Allopurinol and Trichloroacetic Acid (TCA) 50%; Report of Three Cases

Giti Sadeghian<sup>1</sup>, Fatemeh Sokhanvari<sup>2</sup>

### Case Series

#### Abstract

**Background:** Leishmaniasis is a disease transmitted by insects and in total, 88 countries are involved. If there is no remission with Glucantim as a choice of drug, other treatments such as cryotherapy and thermotherapy methods are used or other drugs such as allopurinol, pentamidine and amphotericin are prescribed in this disease. The use of trichloroacetic acid (TCA) 50% solution is another effective treatment.

**Case Report:** We report three cases (two women and one man) of cutaneous leishmaniasis resistant to Glucantim treated with combination therapy of allopurinol and TCA 50%.

**Conclusion:** According to the results, the use of combination therapy of allopurinol and TCA 50% could be used as one of the alternative treatments in Glucantim™-resistant cutaneous leishmaniasis.

**Keywords:** Cutaneous leishmaniasis, Glucantim, Allopurinol, Trichloroacetic acid (TCA) 50%

**Citation:** Sadeghian G, Sokhanvari F. Treatment of Glucantim™-Resistant Cutaneous Leishmaniasis Using Combination Therapy of Allopurinol and Trichloroacetic Acid (TCA) 50%; Report of Three Cases. J Isfahan Med Sch 2017; 34(405): 1318-22.

1- Dermatologist, Skin Diseases and Leishmaniasis Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

2- General Practitioner, Skin Diseases and Leishmaniasis Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

**Corresponding Author:** Giti Sadeghian, Email: gity\_sadeghian@yahoo.com

### ***Editorial Board (In alphabetical order)***

1. **Khosrow Adeli** PhD, Professor of Clinical Biochemistry, University of Toronto, Toronto, Canada
2. **Ali Akhavan** MD, Assistant Professor of Radiotherapy, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
3. **Mohammadreza Akhlaghi** MD, Associate Professor of Otolaryngology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, 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, Leuis Weil University, USA
7. **Reza Bagherian-Sararoudi** PhD, Associate Professor of Psychiatry, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
8. **Majid Berekatain** MD, Professor of Psychiatry, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
9. **Ken Bassett** MD, Professor of Dermatology, Dermatology and Leshmaniosis Research Center, Canada
10. **Ahmad Chitsaz** MD, Professor of Neurology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
11. **Afsoon Emami** MD, Associate Professor of Nephrology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
12. **Shahin Emami** Department of Biochemistry, Saint Antoine Hospital, Paris, France
13. **Ebrahim Esfandiary** MD, PhD, Professor of Medical Anatomy, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
14. **Faramarz Esmailbeigi** MD, Professor of Endocrinology, School of Medicine, California, USA
15. **Ahmad Esmailzadeh** PhD, Professor of Nutrition, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
16. **Ziba Farajzadegan** MD, Professor of Community Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
17. **Aziz Gahari** MD, Professor of Dermatology, Dermatology and Leshmaniosis Research Center, Canada
18. **Jafar Golshahi** MD, Associate Professor of Cardiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
19. **Mostafa Hashemi** MD, Associate Professor of Otolaryngology, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
20. **Saied Morteza Heidari** MD, Professor of Anesthesiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
21. **Ali Hekmatnia** MD, Professor of Radiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
22. **Fariba Iraji** MD, Professor of Dermatology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
23. **Roya Kelishadi** MD, Professor of Pediatrics, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
24. **Behnaz Khani** MD, Associate Professor of Obstetrics & Gynecology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
25. **Majid Kheirollahi** PhD, Associate Professor of Genetics and Molecular Biology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
26. **Parvin Mahzooni** MD, Professor of Pathology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
27. **Marjan Mansourian** PhD, Assistant Professor of Epidemiology and Biostatistics, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
28. **Mohammad Mardani** MD, Professor of Medical Anatomy, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
29. **Mehdi Modares** MD, Professor of Ophthalmology, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
30. **Etiye Moghisi** MD, Professor of Endocrinology, Endocrine and Metabolism Research Center, USA
31. **Mohammadreza Nourbakhsh** PhD, Professor of Physiotherapy, Georgia, USA
32. **Farzin Pourfarzad** PhD, Department of Cell Biology and Genetics, Erasmus University MC Rotterdam, The Netherlands
33. **Masoud Pourmoghaddas** MD, Professor of Cardiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
34. **Maryam Radahmadi** PhD, Assistant Professor of Physiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
35. **Hassan Razmju** MD, Professor of Ophthalmology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
36. **Reza Rouzbahani** MD, Assistant Professor of Community Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
37. **Masih Saboori** MD, Professor of Neurosurgery, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
38. **Mohammad Reza Safavi** MD, Associate Professor of Anesthesiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
39. **Rasoul Salehi** PhD, Assistant Professor of Genetics, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
40. **Mansour Sholevar** MD, Professor of Cardiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
41. **Mohammadreza Sharifi** MD, PhD, Professor of Physiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
42. **Masoud Soheilian** MD, Professor of Ophthalmology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran



## JOURNAL OF ISFAHAN MEDICAL SCHOOL

Vol. 34, No. 405, 1<sup>st</sup> Week January 2017

Isfahan University of Medical Sciences

Chairman: **Mansour Sholehvar MD**

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

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

Associate Editor: **Maryam Radahmadi PhD**

---

### Published by:

Isfahan University of Medical Sciences

Email: [publications@mui.ac.ir](mailto:publications@mui.ac.ir)

### Office:

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

Tel/fax: +98 31 37922291

Email: [jims@med.mui.ac.ir](mailto:jims@med.mui.ac.ir)

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

Executive Manager: Ali Moradi, Office Secretary: Golnaz Rajabi

### Copy Edit, Layout Edit, Proof Reading, Design, Print and Online Support:

FaRa Publishing House (Farzanegan Radandish)

Email: [farapublications@gmail.com](mailto:farapublications@gmail.com)

<http://farapub.com>

Tel/fax: +98 31 32224382

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](http://www.sid.ir))
- [www.iranmedex.com](http://www.iranmedex.com)

---

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

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