مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و چهارم/شماره‌ی ۴۰۶/هفته‌ی دوم دی ماه ۱۳۹۵

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۶/۷
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۷/۱۳

بررسی اثر دود حاصل از عصاره‌ی مستقیم عنبرنسارا بر باکتری‌های گرم مثبت Staphylococcus aureus و Bacillus subtilis

اردشیر طالبی[۱]، ابراهیم حریق[۲]، الناز دهدشتیان[۳]، فرزانه امینی[۴]، مرضیه مشکات[۵]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: استفاده از دودهای طبی جایگزین در درمان بیماری‌ها و از جمله بیماری‌های میکروبی و عفونی در ایران از سال‌های دور رواج داشته است. این مطالعه، با هدف مقایسه‌ی خواص ضد میکروبی دود حاصل از عصاره‌ی مستقیم عنبرنسارا با آنتی‌بیوتیک‌های رایج بر روی Staphylococcus aureus و Bacillus subtilis بود.

روش‌ها: در این مطالعه‌ی آزمایشگاهی، دود عنبرنسارا به عنوان مداخله‌ای بر سوش‌های مورد و گروه‌های آنتی‌بیوتیک بر سوش‌های مشابه به عنوان شاهد در نظر گرفته شدند. سوش‌های استاندارد Staphylococcus aureus و Bacillus subtilis در محیط کشت‌های مناسب کشت داده شدند. عصاره‌گیری عنبرنسارا بدون استفاده از حلال انجام شد تا احتمال تأثیر حلال بر میکروب‌ها را از بین ببرد. سری رقت و آزمایش دیسک دیفیوژن برای هر کدام از باکتری‌ها سه بار انجام شد.

یافته‌ها: میانگین هاله‌ی عدم رشد در Staphylococcus aureus به طور معنی‌داری بیشتر از ونکومایسین بود؛ اما میانگین هاله‌ی عدم رشد در Bacillus subtilis با سیپروفلوکساسین تفاوت معنی‌دار نداشت. آزمون تعقیبی Least significant difference (LSD) نشان داد که قطر هاله‌ی عدم رشد در Staphylococcus aureus به طور معنی‌داری بیشتر از Bacillus subtilis بود. در حالی که، Minimum inhibitory concentration (MIC) برای Bacillus subtilis بیشتر از Staphylococcus aureus و Minimum bactericidal concentration (MBC) برای Bacillus subtilis بیشتر از Staphylococcus aureus بود.

نتیجه‌گیری: دود حاصل از عصاره‌ی عنبرنسارا بر رشد Staphylococcus aureus تأثیر معنی‌داری داشت و می‌توان آن را به عنوان دارو پیشنهاد نمود.

واژگان کلیدی: دود، عنبرنسارا، اثر ضد میکروبی، Bacillus subtilis، Staphylococcus aureus

ارجاع: طالبی اردشیر، حریق ابراهیم، دهدشتیان الناز، امینی فرزانه، مشکات مرضیه. **بررسی اثر عصاره‌ی مستقیم عنبرنسارا بر روی باکتری‌های گرم مثبت Staphylococcus aureus و Bacillus subtilis**. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۵؛ ۳۴ (۴۰۶): ۱۳۵۵-۱۳۵۱

مقدمه

Bacillusها باکتری‌های‌هوازی، گرم مثبت، میله‌ای و اسپوردار هستند که در همه جا یافت می‌شوند. Bacillus subtilis، یک باکتری خاک‌زی، گرم مثبت و میله‌ای شکل می‌باشد که به صورت طبیعی مقادیر فراوانی از پروتئین‌های مختلف را با غلظت‌های بالا به درون محیط کشت ترشح می‌نماید (۲-۱).

Staphylococcus aureus، از جمله عوامل عفونت‌زایی است که به طور تقریبی همه‌ی افراد به نوعی با آن آلوده می‌شوند و طیف بیماری‌زایی آن از یک مسمومیت غذایی ساده، عفونت خفیف و عفونت‌های تهدید کننده‌ی حیات متفاوت است (۳). این باکتری، باعث عفونت‌های بیمارستانی می‌شود که سراسر دنیا با آن دست به گریبان هستند (٤).

به طور تقریبی ۸۰ درصد از مردم کشورهای در حال توسعه، همچنان به استفاده از درمان‌های سنتی ادامه می‌دهند. برخی از داروهای سنتی مانند دود هنوز هم به صورت رایج استفاده می شوند که با گذشت زمان، هنوز هم به همان شکل سنتی خود، از جمله به شکل دود، استفاده می‌شوند (۵).

از جمله‌ی این دودها، دود سرگین الاغ ماده است که به عنبرنسارا

۱- دانشیار، گروه پاتولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲- کارورز، گروه پاتولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳- کارشناس ارشد، گروه میکروبیولوژی، دانشکده‌ی علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد فلاورجان، اصفهان، ایران
۴- کارشناس ارشد، گروه میکروبیولوژی، دانشکده‌ی علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین- پیشوا، ورامین، ایران
۵- کارشناس ارشد، گروه بیولوژی، مؤسسه آموزش عالی نور دانش، میمه، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: اردشیر طالبی
Email: talebi@med.mui.ac.ir

شهرت دارد. این دود، در فرهنگ کهن ایرانی جایگاه مهمی دارد، که برخی از این خواص قدیمی را ذوالفقاری چنین بر شمارد:

– اگر بینی بچه‌ای کیپ شود، به طوری که تنفس برای او مشکل شود، شیر مادر در بینی او می چکانند و یا به بینی او دود سرگین ماده الاغ می‌دهند.

– برای درمان چشم درد، سرگین ماده الاغ را با سقز «ون» مخلوط می‌کنند و به آتش می‌ریزند، بیمار چادری بر سر می‌کشد و چشم را دود می‌دهد.

– هر گاه کسی خون دماغ شود و هیچ چاره مؤثر نیفتد، قدری سرکه روی سرگین الاغ بریزند تا ببوید، خون بند می‌آید.

– اگر عصاره‌ی سرگین الاغ را در دهان گیرند، دندان پوسیده را دوا باشد و اصلاح کند.

– اگر عصاره‌ی سرگین الاغ را بیاشامند، سنگ مثانه دفع کند (٦).

همچنین، هاشمیان با اشاره به جلد سوم کتاب قانون حکیم ابن‌سینا، از دیدگاه وی افشره‌ی سرگین الاغ را بند آوردن هر گونه خونریزی، و بو کردن آن را خونریزی بینی و ریشه‌کن کردن آن مؤثر می‌داند (٧).

از آن جایی که تحقیقات اندکی پیرامون اثربخشی عنبرنسارا انجام شده است، این مطالعه به این منظور انجام شد که قدمی در جهت آزمودن تأثیر این ماده‌ی سنتی بر میکروب‌های گرم مثبت در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌های رایج بردارد.

روش‌ها

در این مطالعه، ابتدا عصاره گیری از عنبرنسارا انجام شد؛ به این ترتیب که عنبرنسارا سوزانده شد و هنگامی که دود آن حاصل شد، یک بشر روی آن قرار گرفت که روی آن یخ تعبیه شده بود. سپس، قطرات حاصل از میعان دود عنبرنسارا توسط سرنگ جمع‌آوری و نگهداری شد. به منظور کاهش آلودگی احتمالی، عصاره ی عنبر نسارا توسط سرنگ استریل جمع‌آوری گردید و عصاره‌ها تازه به تازه و روزانه تهیه شد.

سویه‌ها تهیه و روی Blood agar کشت داده شد. سپس، از باکتری‌های انکوبه شده پس از ٢٤–١٨ ساعت، سوسپانسیونی معادل با ٠/٥ McFarland و سری رقت عصاره حاصل از غلظت ١٠٠ درصد سوش‌های استاندارد از باکتری‌های Staphylococcus aureus (ATCC٢٥٩٢٣) و Bacillus subtilis (ATCC6051) تهیه شد. سوسپانسیون ٠/٥ McFarland تهیه شده، به لوله های سریال رقت افزوده شد و لوله‌ها به مدت ٢٤ ساعت در دمای ٣٧ درجه‌ی سانتی‌گراد انکوبه شدند. بعد از اتمام این زمان، کمترین غلظتی که رشد باکتری را مهار کرده بود (عدم کدورت لوله)، به عنوان کمینه ی غلظت مهاری (Minimum inhibitory concentration یا MIC) مشخص گردید و بقیه‌ی لوله‌های شفاف در محیط Blood agar کشت داده شد. کمترین غلظتی که در آن هیچ رشدی مشاهده نشد (عدم رشد کلنی)، به عنوان حداقل غلظت کشندگی (Minimum bactericidal concentration یا MBC) تعیین شد. به منظور جلوگیری از بروز هرگونه خطا در نتایج به دست آمده، این آزمایش سه بار تکرار شد.

آزمایش آگار دیفیوژن: از باکتری های مورد نظر معادل با کدورت ٠/٥ McFarland تهیه شد و بر روی محیط Muller-Hinton agar به طور چمنی کشت داده شد. سپس، با پیپت پاستور دو چاهک در هر پلیت ایجاد شد. یک چاهک برای عصاره‌ی حاصل از میعان دود عنبرنسارا و یک چاهک برای شاهد منفی که سرم فیزیولوژی بود، تعبیه شد. برای شاهد مثبت، از دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی برای هر نمونه استفاده شد. پلیت‌ها به مدت ٢٤ ساعت در دمای ٣٧ درجه‌ی سانتی‌گراد انکوبه شدند. به منظور جلوگیری از بروز هر گونه خطا در نتایج به دست آمده، این آزمایش سه بار تکرار شد.

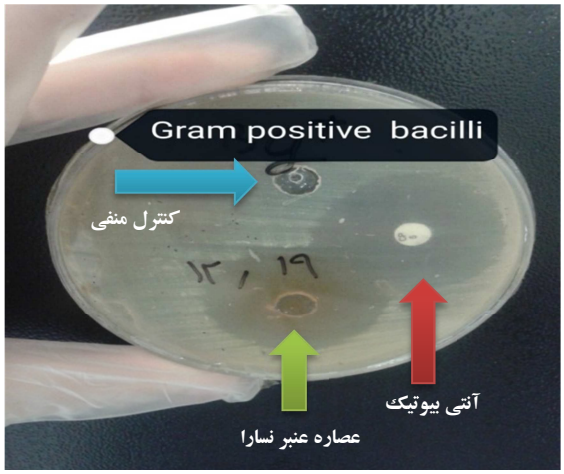
تحلیل آماری: نتایج حاصل از این بررسی پس از سه بار تکرار و تعیین MIC و MBC و انجام آزمایش آگار دیفیوژن، با استفاده از آزمون‌های آماری One-way ANOVA، Paired t و آزمون تعقیبی Least significant difference (LSD) در نرم‌افزار آماری SPSS نسخه‌ی ٢٠ (version 20, SPSS Inc., Chicago, IL)، با هم مقایسه شد. P < ٠/٠٥٠ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

هاله‌ی عدم رشد: بر اساس جدول ١، اگر چه قطر هاله‌ی عدم رشد در Bacillus subtilis بیشتر از Staphylococcus aureus بود، اما آزمون Paired t نشان داد که میانگین هاله‌ی عدم رشد فقط در Staphylococcus aureus در مقایسه با آنتی‌بیوتیک شاهد به طور معنی‌داری بیشتر از هاله‌ی عدم رشد ونکومایسین بود (P < ٠/٠٠١)؛ میانگین هاله‌ی عدم رشد در Bacillus subtilis با هاله‌ی عدم رشد آنتی‌بیوتیک شاهد سیپروفلوکساسین تفاوت معنی‌داری نداشت. در شکل‌های ١ و ٢، هاله‌ی عدم رشد در این دو باکتری مشاهده می‌شود.

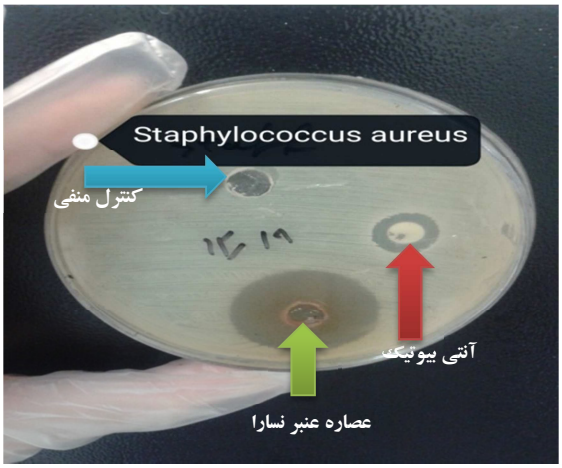
جدول ١. قطر هاله‌ی عدم رشد در Bacillus subtilis و Staphylococcus aureus

نام باکتری	قطر هاله‌ی عدم رشد عنبرنسارا میانگین ± انحراف معیار	قطر هاله‌ی عدم رشد آنتی‌بیوتیک منتخب میانگین ± انحراف معیار	مقدار P
Staphylococcus aureus	٢۶/٠۶ ± ١/١٠	١١/٠۶ ± ١/٠۵	< ٠/٠٠١
Bacillus subtilis	٣٣/٠۶ ± ١/٢٠	٣۴/٠٠ ± ١/۴٠	٠/١٣٠



شکل ۱. هاله‌ی عدم رشد در Bacillus subtilis

مقایسه‌ی میانگین هاله‌ی عدم رشد بین دو به دوی باکتری‌ها با استفاده از آزمون تعقیبی LSD آزمون تعقیبی LSD نشان داد که قطر هاله‌ی عدم رشد در Staphylococcus aureus به طور معنی‌داری بیشتر از Bacillus subtilis بود ($P < ۰/۰۰۱$).



شکل ۲. هاله‌ی عدم رشد در Staphylococcus aureus

MIC و MBC آزمون One-way ANOVA نشان داد که میانگین MIC برای Staphylococcus aureus (۰/۰۰۵۰ ± ۰/۰۶۲۵) به نحو معنی‌داری بیشتر از Bacillus subtilis (۰/۰۰۰۰ ± ۰/۰۳۱۲) بود ($P < ۰/۰۰۱$). همچنین، این آزمون نشان داد که میانگین MBC برای Staphylococcus aureus (۰/۰۵۰۰ ± ۰/۱۲۵۰) به شکلی معنی‌دار بیشتر از Bacillus subtilis (۰/۰۰۰۵ ± ۰/۰۶۲۵) بود ($P < ۰/۰۰۱$).

مقایسه‌ی میانگین MIC و MBC بین دو به دوی باکتری‌ها با استفاده از آزمون تعقیبی LSD آزمون تعقیبی LSD نشان داد که میانگین MIC و MBC در Bacillus subtilis به طور معنی‌داری از Staphylococcus aureus بیشتر بود ($P < ۰/۰۰۱$).

بحث

نتایج مطالعات ما نشان داد که اثر ضد میکروبی عصاره‌ی مستقیم عنبرنسارا در متوقف کردن و از بین بردن دو سوش استاندارد Staphylococcus aureus و Bacillus subtilis به ترتیب برای متوقف کردن با غلظت‌های ۱۰۰ درصد تا رقت ۱/۳۲ و غلظت ۱۰۰ درصد تا رقت ۱/۱۶ و برای از بین بردن به ترتیب با غلظت‌های ۱۰۰ درصد تا ۱/۸ و ۱۰۰ درصد تا ۱/۱۶ مؤثر می‌باشد. همان‌طور که اشاره شد، میانگین هاله‌ی عدم رشد در Staphylococcus aureus به طور معنی‌داری بیشتر از هاله‌ی عدم رشد آنتی‌بیوتیک منتخب باکتری مورد نظر بود ($P < ۰/۰۰۱$)، اما میانگین هاله‌ی عدم رشد در Bacillus subtilis با هاله‌ی عدم رشد آنتی‌بیوتیک منتخب باکتری مورد نظر، تفاوت معنی‌داری نداشت.

پروین و همکاران، طی مطالعه‌ای به این نتیجه دست یافتند که Staphylococcus aureus نسبت به دود سرگین و اسپند و نیز Pseudomonas aeruginosa نسبت به سرگین حساس بودند. همچنین، با افزایش زمان دود دهی، قطر هاله‌ی عدم رشد در موارد حساس بزرگ‌تر می‌شد و به عبارت دیگر، اثرات ضد میکروبی دود افزایش می‌یافت (۳).

نتایج این مطالعه، با یافته‌های مطالعه‌ی حاضر هم‌خوانی دارد؛ با این تفاوت که در مطالعه‌ی حاضر، با عصاره‌ی مستقیم و غلظت‌های متفاوت نتایج دقیق‌تری به دست آمد؛ چرا که نتایج این مطالعه، بر اساس سریال رقت، MIC و MBC تعیین گردید؛ در حالی که در پژوهش پیش‌گفته، نتایج بر اساس زمان دود دهی تعیین شده است.

ترکیب شیمیایی دود عنبرنسارا که در این مطالعه به صورت مستقیم عصاره‌ی آن استخراج شد، دارای مواد مؤثره و خواص ضد میکروبی متفاوتی می‌باشد (۸). به طور کلی، مدفوع حیوانی شامل موادی از جمله مواد ارگانیک، ازت و مقادیر زیادی از مواد گیاهی خورده شده توسط حیوان است (۹). با توجه به موارد گفته شده، وجود مواد سمی و آنتی‌بیوتیک در مدفوع الاغ ماده، ناشی از مواد مصرف شده و هضم مواد غذایی می‌باشد. وجود مواد آنتی‌بیوتیک در مدفوع الاغ ماده، می‌تواند به علت میکروفلورهای متفاوت موجود در بدن این حیوان باشد که بر روی ارگانیسم‌های متفاوتی مؤثر می‌باشند. در طب مصر باستان، از دود مدفوع به عنوان یک ماده‌ی قابل اشتعال اشاره شده است (۱۰).

ترکیبات دود، دارای خاصیت باکتریسیدال و یا باکتریواستاتیک هستند که به علت وجود موادی مانند فرمالدئید، استالدئید، متانول و بعضی از ترکیبات آروماتیک مانند فنل‌ها، گایاکل و کروزول می‌باشند. فعالیت باکتریسیدی دود، مربوط به جزء فرمالدئید آن

می‌باشد، اما بسیاری از ترکیبات موجود در دود و اثرات ضد میکروبی آن‌ها هنوز مشخص نشده است (۱۱).

در حال حاضر، هیچ مطالعه‌ای در خصوص جزئیات مواد موجود در دود عنبرنسارا تاکنون صورت نگرفته است، اما می‌توان این اثرات را به مواد غذایی و گیاهان مصرف شده و گوارش شده در معده‌ی حیوان و حتی پروبیوتیک‌ها و آنتی‌بیوتیک‌های موجود دردستگاه گوارش الاغ ماده نسبت داد (۳).

طبق مطالعات قبلی، از جمله مواد موجود در عنبرنسارا، لیگنین می‌باشد که هیدرولیز آن موجب تشکیل سه گروه اسیدهای ضعیف، ترکیبات فوران و ترکیبات فنلی می‌شود که احتمال می‌رود اثرات ضد میکروبی دود عنبرنسارا و عصاره‌ی آن، به یکی از این سه گروه مواد مربوط باشد (۱۰).

محققزاده و همکاران نیز در مقاله‌ی خود درباره‌ی دودهای دارای مصارف طبی، به این نکته اشاره دارند که اطلاعات اندکی در خصوص اجزای دودهای طبی در دسترس است (۱۲).

همچنین، ذوالفقاری به خواص قدیمی عنبرنسارا اشاره می‌نماید که در تأیید یافته‌های مطالعه‌ی حاضر می‌باشد (٦). یافته‌های این مطالعه، با اشارات شاعران و دانشمندان قدیمی که در مقاله‌ی هاشمیان به آن‌ها اشاره شده است، هم‌خوانی دارد (۷).

نتیجه‌گیری نهایی این که با توجه به اثرات ضد میکروبی عصاره‌ی عنبرنسارا بر روی Staphylococcus aureus و Bacillus subtilis ارزش دارویی احتمالی این عصاره آشکار می‌گردد. نتایج این مطالعه، زمینه‌ی جدیدی برای انجام مطالعات بعدی در خصوص خاصیت ترمیم زخم و اثرات روی دیگر سویه‌های پاتوژنیک را فراهم می‌نماید. از این رو، پیشنهاد می‌گردد در آینده مطالعات دیگری به منظور شناسایی مواد مؤثره‌ی موجود در این عصاره و همچنین، شناسایی مواد باکتریسید و باکتریواستاتیک موجود در آن صورت گیرد.

تشکر و قدردانی

این مقاله، برگرفته از پایان‌نامه‌ی مصوب مقطع پزشکی عمومی به شماره طرح ۳۹۵۱۰۷ در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان می‌باشد. بدین وسیله از این دانشگاه جهت تأمین هزینه‌ی اجرای مطالعه و همچنین، از پرسنل آزمایشگاه المهدی (عج) اصفهان که در اجرای این طرح همکاری نمودند، سپاسگزاری می‌گردد.

References

1. Jay JM, Loessner MJ, Golden DA. Staphylococcal gastroenteritis. Modern food microbiology. New York, NY: Springer; 2005. p. 545-60.
2. Rashidi MR, Moghbeli M. Construction of an expression shuttle vector for Escherichia coli and Bacillus subtilis. Journal of Microbial World 2013; 6(6): 188-97.
3. Parvin N, Validi M, Banitalebi M, Mobini G, Ashrafi K, Farrokhi E, et al. Effect of medicinal smokes on some nosocomial infection factors. J Shahrekord Univ Med Sci. 2010; 12(2): 76-83. [In Persian].
4. Andrade-Figueiredo M, Leal-Balbino TC. Clonal diversity and epidemiological characteristics of Staphylococcus aureus: high prevalence of oxacillin-susceptible mecA-positive Staphylococcus aureus (OS-MRSA) associated with clinical isolates in Brazil. BMC Microbiol 2016; 16(1): 115.
5. Kim HS. Do not put too much value on conventional medicines. J Ethnopharmacol 2005; 100(1-2): 37-9.
6. Zolfaghari H. Treatment of the common people. J Islamic Iran Trad Med 2013; 4(2): 138-60. [In Persian].
7. Hashemian L. Confirmation of Avicenna medical theories according to the ancient medical books and poetries of Persian poets. Proceedings of the International Avicenna Conference; 2004 Aug 8-10; Hamedan, Iran. [In Persian].
8. Rasouli I, Rezaei MB. Comparison of antimicrobial effects of ampicillin and essential oils of Zatarin Multiflora. Hakim Health Systems Research Journal 2001; 4(3): 219-25. [In Persian].
9. Moral R, Moreno-Caselles J, Perez-Murcia MD, Perez-Espinosa A, Rufete B, Paredes C. Characterisation of the organic matter pool in manures. Bioresour Technol 2005; 96(2): 153-8.
10. Palmqvist E, Hahn-Hägerdal B. Fermentation of lignocellulosic hydrolysates. II: inhibitors and mechanisms of inhibition. Bioresour Technol 2000; 74(1): 25-33.
11. Javadi A, Mirzaii H, Pashak P. Effect of warm-smoking on total microbial count of meat products. Journal of Veterinary Clinical Pathology 2007; 1(3): 171-6. [In Persian].
12. Mohagheghzadeh A, Faridi P, Shams-Ardakani M, Ghasemi Y. Medicinal smokes. J Ethnopharmacol 2006; 108(2): 161-84.

Journal of Isfahan Medical School

Vol. 34, No. 406, 2nd Week, January 2017

Received: 28.08.2016

Accepted: 04.10.2016

Evaluation of the Effect of Smoke of Anbar Nasara (Donkey Dung) Extract on Staphilococcus Aureus and Bacilus Subtilis

Ardeshir Talebi[1], Ebrahim Harigh[2], Elnaz Dehdashtian[3], Farzaneh Amini[4], Marzieh Meshkat[5]

Original Article

Abstract

Background: The use of medicinal smokes in treatment of many diseases, including infectious microbial diseases, has long been popular in Iran. This study aimed to compare the antimicrobial effects of smoke of Anbar Nasara (donkey dung) extract on Staphylococcus aureus and Bacillus subtilis with common antibiotics.

Methods: In this experimental study, donkey dung smoke as medicine and antibiotics as a control group were considered. Standard strains of Staphylococcus aureus and Bacillus subtilis were cultured in suitable mediums. Anbar Nasara extract was prepared without use of solvent, in order to prevent the antibacterial effect of solvent on microbes. Dilution and disk diffusion test was performed 3 times for each of the bacteria.

Findings: The mean of inhibition zone of Staphylococcus aureus by Anbar Nasara smoke was significantly greater than the inhibition zone induced by vancomycin; but there was no significant difference between the inhibition zone of Bacillus subtilis induced by Anbar Nasara smoke and ciprofloxacin. Least significant difference (LSD) post hoc test showed that the inhibition diameter of Staphylococcus aureus was significantly higher than the Bacillus subtilis. Bacillus subtilis induced higher minimum inhibitory concentration (MIC) values than Staphylococcus aureus; but, Bacillus subtilis induced higher minimum bactericidal concentration (MBC) values than Staphylococcus aureus.

Conclusion: The smoke of Anbar Nasara extract has a significant inhibitory effect on Staphylococcus aureus growth; so it can be offered as a medicine.

Keywords: Antimicrobial effect, Donkey dung, Smoke, Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis

Citation: Talebi A, Harigh E, Dehdashtian E, Amini F, Meshkat M. **Evaluation of the Effect of Smoke of Anbar Nasara (Donkey Dung) Extract on Staphilococcus Aureus and Bacilus Subtilis.** J Isfahan Med Sch 2017; 34(406): 1351-5.

1- Associate Professor, Department of Pathology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
2- Intern, Department of Pathology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
3- Department of Microbiology, School of Biological Sciences, Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran
4- Department of Microbiology, School of Biological Sciences, Varamin- Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran
5- Department of Biology, Nourdanesh Institute of Higher Education, Meymeh, Iran
Corresponding Author: Ardeshir Talebi, Email: talebi@med.mui.ac.ir