دارای رتبه علمی-پژوهشی از کمیسیون نشریات علوم پزشکی کشور

دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی اصفهان

مجله دانشکده پزشکی اصفهان

JOURNAL OF ISFAHAN MEDICAL SCHOOL

Isfahan University of Medical Sciences and Health Services

شماره استاندارد بین المللی: ۱۰۲۷-۷۵۹۵
شماره استاندارد آن لاین: ۱۷۳۵-۸۵۴x

سال سی و دوم/شماره ۲۹۵/ هفته چهارم شهریور ۱۳۹۳ **هفته‌نامه**

Print ISSN: 1027-7595
Online ISSN: 1735-854x

Weekly Vol. 32, No. 295, 4th Week, September 2014

مقاله‌های پژوهشی

اثربخشی درمان گروهی پذیرش و تعهد (ACT) بر پذیرش درد، اضطراب مرتبط با درد و شدت درد بیماران مرد مبتلا به درد مزمن ۱۱۵۶
محمد حسن انوری، دکتر امراله ابراهیمی، دکتر حمید طاهر نشاط دوست، دکتر حمید افشار، دکتر احمد عابدی

تأثیر محیط کشت بر فعالیت اسید فسفاتاز و خصوصیات این آنزیم در شکل عفونی پروماسیگوت‌های انگل لیشمانیا .. ۱۱۶۶
امیر نوابی، دکتر سیمین دخت سلیمانی‌فرد

تعیین فراوانی سویه‌های MDR اسینتوباکتر بومانی ایزوله شده از بخش مراقبت‌های ویژه (ICU) بیمارستان‌های شهر اصفهان با روش مولکولی و بررسی الگوی مقاومت دارویی آن‌ها ۱۱۷۵
حسن قجاوند، اصغر هوایی، دکتر بهرام نصر اصفهانی، دکتر حسین فاضلی، دکتر شراره مقیم

بررسی فراوانی نسبی پذیرش و سرانجام سالمندان بستری شده در اورژانس مرکز آموزشی و درمانی الزهرا (س) ... ۱۱۸۶
دکتر پرویز کاشفی، حسین دارابی، علی مهرابی کوشکی

مقاله مروری

بروسلا: بیماری‌زایی، واکنش سیستم ایمنی و واکسن ۱۱۹۷
دکتر امیر قاسمی، دکتر رضا رنجبر

Original Articles

The Effectiveness of Group-Based Acceptance and Commitment Therapy on Pain-Related Anxiety, Acceptance of Pain and Pain Intensity in Patients with Chronic Pain 1165
Mohammad Hasan Anvari Msc, Amrollah Ebrahimi PhD, Hamid Taher Neshatdoost PhD, Hamid Afshar MD, Ahmad Abedi PhD

The Effect of Medium in Properties and Activity of Acid Phosphatase (ACP) in the Infective Form of Leishmania Major Promastigotes 1174
Amir Navabi MSc, Simindokht Soleimanifard PhD

Frequency of Multi-Drug Resistance Acinetobacter Baumannii Isolates in Intensive Care Units (ICU) of Isfahan Hospitals, Iran, via Molecular Method and Their Antimicrobial Resistance Patterns 1185
Hasan Ghajavand, Asghar Havaei PhD, Bahram Nasr Esfahani PhD, Hossein Fazeli PhD, Sharareh Moghim PhD

Evaluation of Relative Frequency of Acceptance and Finally Hospitalized Elderly in Al-Zahra Hospital, Isfahan, Iran 1196
Parviz Kashefi MD, Hossein Darabi, Ali Mehrabi-Koshki

Review Article

Brucella: Pathogenesis, Immune System Response and Vaccine 1215
Amir Ghasemi PhD, Reza Ranjbar PhD

مجله دانشکده پزشکی اصفهان

سال سی و دوم، شماره (۲۹۵)، هفته چهارم شهریور ۱۳۹۳

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 رضا روزبهانی

ناشر:
انتشارات دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
نشانی: اصفهان، خیابان هزار جریب، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
E-mail: publications@mui.ac.ir
دفتر مجله: دانشکده پزشکی صندوق پستی: ۸۱۷۴۴/۱۷۶
مسؤول دفتر: گلناز رجبی
تلفن: ۶۶۹۴۷۳۷-۰۳۱۱ **دورنگار:** ۷۹۲۲۲۹۱-۰۳۱۱
E-mail: jims@med.mui.ac.ir
وب سایت مجله: http://www.journals.mui.ac.ir/jims

امور نشر:
(ویراستاری، صفحه آرایی، طراحی و چاپ)
شرکت فرزانگان راداندیش
اصفهان، صندوق پستی ۱۷۹۸-۸۱۴۶۵
تلفن و دورنگار: ۶۶۸۶۳۰۲-۰۳۱۱

f.radandish@gmail.com
www.farzaneganco.ir
تیراژ: ۵۰۰ نسخه

این مجله در نمایه‌های بین‌المللی زیر در دسترس قرار دارد.

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

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

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

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

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

راهنمای نویسندگان مجله دانشکده پزشکی اصفهان

۱- **اهداف و چشم انداز:** مجله دانشکده پزشکی اصفهان به صورت هفته‌نامه و تحت حمایت دانشگاه علوم پزشکی اصفهان منتشر می‌گردد.

۲- این مجله مقالات اصلی و پژوهشی، مروری، مقالات کوتاه، مقالات دارای امتیاز بازآموزی و نامه به سردبیر را منتشر می‌نماید و همچنین فیلم‌های آموزشی تهیه شده توسط محققین را بر روی وب سایت مجله قرار می‌دهد.

۳- **پذیرش دست‌نوشته:** پذیرش دست نوشته‌ها و پیگیری‌های بعدی در این مجله فقط از طریق وب سایت اختصاصی آن به آدرس http://www.journals.mui.ac.ir/jims و پس از ثبت نام (Registration) در آن ممکن می‌باشد. همراه دست نوشته باید یک نامه تایپ شده (Covering letter) به سردبیر، شامل عنوان و اسامی نویسنده یا نویسندگان و اعلام این که این دست نوشته در مجلات دیگر چاپ نشده است و یا همزمان در حال بررسی نمی‌باشد، ارسال گردد.

۴- دست‌نوشته باید توسط نرم‌افزار MS Word در سایز A_4 و فاصله خطوط دو برابر (Double Spaced) با حاشیه‌های ۲/۵ سانتی‌متری تهیه شوند. جداول بدون حاشیه خارجی و تصاویر در فرمت GIF و JPEG و در تعداد محدود باشند. ارسال مدارک با فرمت PDF به هیچ عنوان پذیرفته نیست.

۵- دست نوشته باید شامل صفحه عنوان، چکیده، مقدمه ، روش‌ها، یافته‌ها، بحث، تقدیر و تشکر و منابع باشد.
صفحه عنوان: این صفحه بایدشامل عنوان کامل،عنوان مکرری، اسامی نویسنده یا نویسندگان با بالاترین مدرک تحصیلی، گروه یا بخش یا مؤسسه محل فعالیت ایشان و همچنین آدرس، تلفن، فاکس و پست الکترونیکی نویسنده مسؤول باشد. ذکر منابع مالی و اعتباری طرح پژوهشی در این صفحه ضروری است.

۶- **چکیده:** تمام مقالات اصلی باید دارای چکیده مقاله به دو زبان فارسی و انگلیسی با حداکثر ۲۵۰ کلمه باشد. چکیده باید شامل بخش‌های سابقه علمی موضوع، روش‌ها، یافته‌ها و بحث باشد. در پایان چکیده مقاله ۵-۳ کلمه کلیدی قرار می‌گیرد که تنها با استفاده از راهنمای MESH در آدرس (http://nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.html) استخراج گردند.

۷- **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.

۸- **روش‌ها:** این بخش شامل ارائه دقیق مشاهدات، مداخلات و روش‌های مورد استفاده در مطالعه است. اگر روش مورد استفاده شناخته شده است فقط منبع آن ذکر گردد اما اگر روشی نوین است، باید به صورتی توضیح داده شود که برای سایر محققان قابل درک و به طور عینی قابل انجام و تکرار باشد. در صورت استفاده از دستگاه و تجهیزات خاص باید نام، نام کارخانه سازنده و آدرس آن در 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؛ در مورد پرسش‌نامه‌های استاندارد ذکر نام و مرجع آن کافی است.

۹- **یافته‌ها:** این بخش به صورت متن همراه با جدول‌ها، شکل‌ها و نمودارها ارائه می‌گردد. محتوای جداول نباید به صورت کامل در متن ارائه شوند، بلکه کافی است با ذکر شماره جدول، شکل و یا نمودار به آنها اشاره شود. جدول‌ها، نمودارها و شکل‌ها هر کدام باید در یک صفحه جداگانه و پس از منابع، در پایان دست‌نوشته آورده شوند. در این بخش فقط یافته‌ها ارائه می‌شود و باید از ذکر دلایل و استدلال‌های مرتبط با آن خودداری گردد.

۱۰- **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.

۱۱- **تقدیر و تشکر:** تمام افرادی که به نحوی در انجام مطالعه نقش داشته ولی جزء نویسندگان نبوده‌اند باید در این بخش 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.

۱۲- **جدول‌ها:** 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 دست نوشته (پس از منابع) قرار داده شوند.

۱۳- **شکل‌ها:** تعداد محدود شکل همراه ذکر عنوان آن در زیر شکل یا نمودار و با فرمت GIF و JPEG قابل قبول است. اطلاعات موجود در شکل‌ها یا نمودارها نباید به طور کاملاً مشابه در جدول‌ها و یا متن مقاله ذکر شده باشند.

۱۴- **منابع:** نویسنده باید از صحت اشاره منابع ذکر شده به مطالب مورد استناد مطمئن باشد. ساختار منابع در این مجله بر اساس Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Bio Medical Journals (ICMJE) و معاهده ونکوور (Vancouver) می‌باشد. تمامی منابع باید به زبان انگلیسی باشد، ترجمه متن منابع فارسی به عهده نویسنده است و در پایان آن عبارت [Persian] خواهد آمد. موارد ذیل برای نمونه ذکر می‌گردد:

اگر منبع مورد نظر مقاله است:

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

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

(FA): Zini F, Basiri Jahromo Sh. Study of fungal infections in patients with leukemia. Iranian journal of public health 1994; 1(4):89-103.[Persian].

(چنانچه تعداد نویسندگان ۶ نفر یا کم‌تر باشد، ذکر اسامی آن‌ها ضروری است. اگر تعداد آن‌ها ۷ نفر یا بیشتر باشد، پس از ۶ نفر، عبارت "et al." استفاده شود.)

اگر منبع مورد نظر کتاب است:

نام خانوادگی و حرف اول نام کوچک نویسنده (نویسندگان). عنوان کتاب. نوبت چاپ. محل نشر: ناشر؛ سال انتشار. p. شماره صفحات (نام نویسندگان با علامت کاما از هم جدا شود). مثال:

(EN): Romenes GJ. Cunningham’s manual. 15th ed. New York: Oxford Univ Press; 1987.p.43-5.

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

اگر منبع مورد نظر فصلی از کتاب است:

نام خانوادگی و حرف اول نام کوچک نویسنده (نویسندگان) آن فصل. عنوان فصل مورد نظر. در: نام خانوادگی و حرف اول نام تدوین کننده‌ی کتاب. عنوان کتاب. نوبت چاپ. محل نشر: نام ناشر؛ سال انتشار. p. صفحات. مثال:

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

۱۵- **نمونه‌خوانی (Proofreading):** یک نسخه از مقاله پیش از چاپ جهت انجام اصلاحات ضروری و بر طرف کردن اشکالات احتمالی برای نویسنده مسؤول ارسال می‌گردد که لازم است در کوتاه‌ترین زمان تغییرات مورد نظر مجله انجام داده، از طریق وب‌سایت مجله ارسال نماید.

۱۶- **اختصارات و نشانه‌ها:** تنها از اختصارات و نشانه‌های استاندارد استفاده شود و از ذکر عبارت های مخفف در عنوان و خلاصه مقاله خودداری گردد.

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

۱۸- پس از چاپ، یک نسخه از مجله برای نویسنده مسؤول ارسال خواهد شد.

۱۹- **ملاحظات اخلاقی:** این ملاحظات باید در بخش روش‌ها اشاره گردند. اخذ رضایت‌نامه از کلیه‌ی افراد بالغ شرکت کننده در مطالعه ضروری است و در مورد کودکان و افراد تحت تکفل باید از ولی قانونی آنها اخذ شود. ذکر منبع تأیید کننده‌ی ملاحظات اخلاقی مطالعه لازم است. هنگام استفاده از حیوانات آزمایشگاهی ذکر رعایت و مقررات استاندارد مربوط لازم است.

۲۰- **تداخل منافع (Conflict of Interest):** نویسنده یا نویسندگان باید هر گونه ارتباط مالی مانند دریافت هزینه، حق‌الزحمه، مواد و تجهیزات از دانشگاه‌ها، سازمان‌ها، نهادها، شرکت‌ها و سایر منابع که انتشار یافته‌های مطالعه می‌تواند به آنها سود یا زیان برساند را اعلام نمایند.

۲۱- **هزینه چاپ:** هیچ گونه هزینه‌ای برای چاپ مقالات در این مجله دریافت نمی‌شود.

۲۲- **حق نسخه‌برداری (Copyright):** تمامی محتویات مجله دانشکده پزشکی اصفهان تحت قانون حق نسخه‌برداری بین‌المللی قرار دارد. این مجله برای استفاده غیر تجاری در اختیار افراد قرار می‌گیرد. اصلاح، انتشار، انتقال و نمایش هر گونه محتویات مجله بدون ذکر نام این مجله ممنوع است.

۲۳- **فرآیند مرور دقیق (Peer Review):** تمام دست‌نوشته‌ها توسط حداقل ۳ نفر از داوران منتخب شورای نویسندگان مجله مورد بررسی دقیق قرار می‌گیرد. نویسنده‌ی مسؤول در کوتاه‌ترین زمان در جریان تصمیم سردبیر در مورد رد، قبول یا اصلاحات مورد نظر داوران و هیأت تحریریه قرار خواهد گرفت. در صورت پذیرش مقاله برای چاپ، نامه پذیرش به همراه ایمیل برای نویسنده‌ی مسؤول ارسال می‌شود و مقاله در نوبت چاپ قرار خواهد گرفت.

۲۴- هیأت تحریریه در رد، اصلاح، ویرایش و خلاصه کردن مقاله آزاد است.

۲۵- مسؤولیت صحت یا سقم مطالب ارائه شده در مقاله بر عهده‌ی نویسنده یا نویسندگان است.

فهرست مطالب

مقاله‌های پژوهشی

اثربخشی درمان گروهی پذیرش و تعهد (ACT) بر پذیرش درد، اضطراب مرتبط با درد و شدت درد بیماران مرد مبتلا به درد مزمن.....۱۱۵۶
محمد حسن انوری، دکتر امراله ابراهیمی، دکتر حمید طاهر نشاط دوست، دکتر حمید افشار، دکتر احمد عابدی

تأثیر محیط کشت بر فعالیت اسید فسفاتاز و خصوصیات این آنزیم در شکل عفونی پروماسیگوت‌های انگل لیشمانیا.....۱۱۶۶
امیر نوابی، دکتر سیمین دخت سلیمانی‌فرد

تعیین فراوانی سویه‌های MDR اسینتوباکتر بومانی ایزوله شده از بخش مراقبت‌های ویژه (ICU) بیمارستان‌های شهر اصفهان با روش مولکولی و بررسی الگوی مقاومت دارویی آن‌ها.....۱۱۷۵
حسن قجاوند، اصغر هوایی، دکتر بهرام نصر اصفهانی، دکتر حسین فاضلی، دکتر شراره مقیم

بررسی فراوانی نسبی پذیرش و سرانجام سالمندان بستری شده در اورژانس مرکز آموزشی و درمانی الزهرا (س).....۱۱۸۶
دکتر پرویز کاشفی، حسین دارابی، علی مهرابی کوشکی

مقاله مروری

بروسلا: بیماری‌زایی، واکنش سیستم ایمنی و واکسن.....۱۱۹۷
دکتر امیر قاسمی، دکتر رضا رنجبر

مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و دوم/شماره ۲۵۹/هفته چهارم شهریور ماه ۱۳۹۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۲/۲۵
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۵/۲۰

اثربخشی درمان گروهی پذیرش و تعهد (ACT) بر پذیرش درد، اضطراب مرتبط با درد و شدت درد بیماران مرد مبتلا به درد مزمن

محمد حسن انوری[۱]، دکتر امراله ابراهیمی[۲]، دکتر حمید طاهر نشاط دوست[۳]،
دکتر حمید افشار[۴]، دکتر احمد عابدی[۵]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: درد مزمن از مشکلات شایع و پدیده‌ای چند مؤلفه‌ای است که مدیریت آن مستلزم مداخلات طبی و روان‌شناختی است. هدف از مطالعه‌ی حاضر، بررسی اثربخشی درمان گروهی پذیرش و تعهد (ACT یا Acceptance and commitment therapy) براضطراب مرتبط با درد، پذیرش درد و شدت آن در بیماران مرد مبتلا به درد مزمن بود.

روش‌ها: در قالب یک مطالعه‌ی کارآزمایی بالینی، ۳۰ بیمار واجد ملاک‌های ورود با روش نمونه‌گیری در دسترس از بین بیماران مرد مبتلا به درد مزمن مراجعه کننده به مراکز درمانی تحت پوشش دانشگاه علوم پزشکی اصفهان در سال ۱۳۹۱ انتخاب و به طور تصادفی به دو گروه مورد و شاهد تقسیم شدند. ابزار پژوهش شامل پرسش‌نامه‌های پذیرش درد مزمن (CPAQ یا Chronic pain acceptance questionnaire)، فرم کوتاه مقیاس نشانگان اضطراب مرتبط با درد (PASS-۲۰ یا Pain anxiety symptoms scale)، مقیاس شدت درد (PIS یا Pain anxiety symptoms scale) و پرسش‌نامه‌ی جمعیت‌شناختی بود. گروه مورد طی ۸ جلسه‌ی ۱/۵ ساعته تحت درمان پذیرش و تعهد قرار گرفتند. مرحله‌ی پیگیری دو ماه پس از آخرین جلسه‌ی درمان انجام شد.

یافته‌ها: درمان پذیرش و تعهد بر افزایش پذیرش درد، کاهش اضطراب مرتبط با درد و شدت درد مؤثر است ($P < ۰/۰۵۰$).

نتیجه‌گیری: یافته‌های این پژوهش حاکی از کارایی این شیوه‌ی نوظهور درمان شناختی- رفتاری است که به نظر می‌رسد به علت تلفیق تکنیک‌های شرقی در آن، برای بیماران ایرانی مناسب‌تر است.

واژگان کلیدی: اضطراب مرتبط با درد، درد مزمن، درمان پذیرش و تعهد

ارجاع: انوری محمد حسن، ابراهیمی امراله، نشاط دوست حمید طاهر، افشار حمید، عابدی احمد. **اثربخشی درمان گروهی پذیرش و تعهد (ACT) بر پذیرش درد، اضطراب مرتبط با درد و شدت درد بیماران مرد مبتلا به درد مزمن.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۲۹۵): ۱۱۶۵-۱۱۵۶

۱- کارشناس ارشد، گروه روانشناسی بالینی، دانشکده‌ی علوم تربیتی و روانشناسی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران
۲- استادیار، مرکز تحقیقات روان تنی و گروه روان‌پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳- استاد، گروه روان‌شناسی، دانشکده‌ی علوم تربیتی و روان‌شناسی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران
۴- دانشیار، مرکز تحقیقات روان تنی و گروه روان‌پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۵- استادیار، گروه روان‌شناسی، دانشکده‌ی علوم تربیتی و روان‌شناسی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر امراله ابراهیمی
Email: a_ebrahimi@med.mui.ac.ir

مقدمه

انجمن بین‌المللی مطالعه‌ی درد (IASP یا International Association for the Study of Pain)، درد را این گونه تعریف می‌کند: «یک تجربه‌ی حسی و روانی ناخوشایند که با آسیب احتمالی یا واقعی بافت در ارتباط است و یا در دوره‌های این گونه آسیب‌های بافتی به وجود می‌آید» (۱). درد از نظر مدت به دو نوع حاد و مزمن تقسیم‌بندی می‌شود. درد حاد، به طور خلاصه به عنوان دردی با شروع سریع و مدت کوتاه توصیف می‌شود. این درد، نقشی حفاظتی بر عهده دارد که شخص را از صدمات، آگاه می‌سازد و حرکات دور شونده از محرک آزارنده را موجب می‌گردد. نشانگان درد مزمن (CPS یا Chronic pain syndrome) مشکلی شایع است که به علت ماهیت پیچیده، سبب‌شناسی مبهم و پاسخ ضعیف به درمان، چالش‌های عظیمی را برای درمانگران ایجاد می‌کند.

پیامدهای عاطفی زندگی با درد، ترس، اضطراب، ناامیدی و افسردگی است (۲). گروهی از پژوهشگران معتقدند که خلق افسرده آستانه‌ی تحمل درد را کاهش می‌دهد (۳). Nash و همکاران، تعامل عوامل شناختی، هیجانی و شدت درد در پیش‌بینی ناتوانی بیماران مبتلا به سردرد را تبیین نمودند که در این بین، نقش یگانه و مهم اضطراب مرتبط با درد، در ناتوانی بیماران مبتلا به سردرد برجستگی بیشتری دارد (۴). بر این اساس، از یک سو درد، عواطف منفی را به دنبال دارد و از سوی دیگر، عاطفه‌ی منفی به نوبه‌ی خود باعث تداوم درد می‌شود. تأثیر علی هر یک بر دیگری، یکی از مهم‌ترین اسرار تجربه‌ی درد است. با وجود اثربخشی متوسط برخی درمان‌های زیستی و روانی برای درد، درد مزمن همچنان برای بسیاری، یک بیماری استرس‌آور و ناتوان کننده است و برای آن درمان کامل و موفقی وجود ندارد (۵).

از این رو، درمانگران تلاش می‌کنند با ترکیب تکنیک‌های درمانی مختلف یا گسترش درمان‌های موجود، سلامت بیشتر درمان جویان را تأمین نمایند.

در مورد درمان‌های روان‌شناختی برای درد مزمن، که جایگاه ویژه‌ای هم در این بین دارند، می‌توان به رفتار درمانی، روان‌کاوی، پسخوراند زیستی و تن‌آرامی، درمان شناختی- رفتاری، خانواده درمانی، گروه درمانی و جدیدترین آن‌ها یعنی درمان پذیرش و تعهد (ACT یا Acceptance and commitment therapy) اشاره کرد.

ACT بخشی از یک مکتب روان‌شناسی بالینی است که متعهد به ارایه‌ی روش‌های درمانی علمی است (ACT یک کلمه‌ی واحد است نه مخفف چند کلمه). این مدل روان درمانی جدید، بخشی از آن چه امروزه «موج سوم» درمان شناختی- رفتاری نامیده می‌شود، به حساب می‌آید (۶).

ACT اجتناب از درد و استرس را مشکل اصلی بیماران می‌داند که به ناتوانی و کاهش رضایت از زندگی می‌انجامد. طبق این نظریه، اجتناب زمانی اتفاق می‌افتد که افکار و هیجانات منفی اثر مفرط و نامناسب بر رفتار می‌گذارند. بنابراین، شیوه‌ی اصلی درمان ACT مواجهه‌سازی بیمار با موقعیت‌هایی است که پیشتر از آن‌ها اجتناب شده است.

از بین این درمان‌ها در حوزه‌ی پژوهش و کار بالینی درمان شناختی- رفتاری (به صورت گروهی) بیشترین توجهات را به خود جلب کرده و کارآیی آن به تأیید رسیده است (۷)؛ اما از زمان ظهور و گسترش درمان پذیرش و تعهد (۸)، ادبیات پژوهشی

درد مزمن (خارج از کشور) شاهد استقبال روزافزون پژوهشگران از این درمان است (۹). پژوهش Keogh و همکاران نشان داد که حساسیت به اضطراب، بیشتر از متغیرهای دیگر، با درد، ناتوانی و استرس رابطه دارد و مداخله‌ی درمانی با استفاده‌ی همزمان از سه متغیر درمانی پذیرش، ذهن آگاهی و ارزش‌ها، تأثیر حساسیت به اضطراب را کاهش و کیفیت زندگی و عملکرد کلی را افزایش داده است (۱۰). McCracken و Velleman ادعا می‌کنند که پذیرش به تدریج به یک مفهوم با ارزش در نظریه‌های معاصر در مورد چگونگی واکنش و انطباق بیماران با درد مزمن تبدیل می‌شود (۱۱).

اگر چه برخی مطالعات، ACT را نسبت به CBT (Cognitive behavioral therapy) در تجربه‌ی فاجعه‌زدایی درد، کیفیت زندگی و پذیرش درد مؤثرتر گزارش کرده‌اند (۱۱)، اما در یک مطالعه‌ی فرا تحلیلی مربوط به مقایسه‌ی سه شیوه‌ی رایج مداخلات درد شامل مدیریت استرس مبتنی بر ذهن آگاهی، CBT و ACT، برتری چشمگیری برای ACT نسبت به دو روش دیگر گزارش نشد. با این حال، با توجه به تأثیر ACT روی ابعاد مختلف درد، جایگزین مناسبی برای سایر روش‌ها در نظر گرفته شد.(۱۲).

در مطالعات دیگر، اثربخشی ACT بر افسردگی، اضطراب مرتبط با درد، احساس ناتوانی، عملکرد شغلی و تعداد مراجعه به پزشک (۱۳)، بر تعدیل متغیرهای میانجی‌گری درد نظیر باورهای مربوط به آسیب ناشی از درد، ترس از حرکت، فاجعه پنداری درد و خودکارآمدی گزارش شده است (۱۴). همچنین مقایسه‌ی کفایت درمان مبتنی بر ACT با سایر درمان‌های بین رشته‌ای دیگر نیز حکایت از برتری این روش در افزایش توانایی کارکردهای مرتبط با درد، کیفیت زندگی، غلبه بر ترس از حرکت و کاهش شکایت از شدت درد در دوره‌های پیگیری شش ماهه داشته است (۱۵).

با وجود اثربخشی درمان پذیرش و تعهد در بهبود ابعاد جسمانی وروانی درد مزمن، در پژوهش‌های داخل ایران، گزارش‌های محدودی از کاربرد آن شده است.

پژوهش حاضر با هدف بررسی اثربخشی درمان گروهی پذیرش و تعهد بر پذیرش درد، اضطراب مرتبط با درد و شدت درد بیماران مرد مبتلا به درد مزمن انجام شد.

روش‌ها

شرکت کنندگان شامل ۳۰ بیمار مرد مبتلا به درد مزمن بودند که از بین بیماران سرپایی مرد مراجعه کننده به مراکز درمانی وابسته به دانشگاه علوم پزشکی اصفهان در شش ماه نخست سال ۱۳۹۱ انتخاب شدند. این پژوهش از نوع کارآزمایی بالینی بود که با طرح پیش آزمون- پس آزمون با گروه شاهد و پیگیری دو ماهه انجام شد.

پس از تصویب این طرح در مرکز تحقیقات روان‌تنی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، ابتدا ابزارهای پژوهش به فارسی ترجمه شدند و در یک مطالعه‌ی پایلوت، روایی و پایایی آن‌ها ارزیابی گردید.

با معرفی پژوهشگر به مراکز درمانی تحت پوشش دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، یک مصاحبه‌ی مقدماتی با بیماران مبتلا به درد مراجعه کننده به این مراکز صورت گرفت و غربالگری اولیه‌ی بیماران انجام شد. آزمودنی‌های واجد ملاک‌های ورود به آزمون، به طور هدفمند انتخاب شدند و پس از تعیین

و جایگزینی تصادفی ساده در گروه‌های مورد و شاهد، یک جلسه‌ی پیش آزمون برگزار شد و دو گروه به سؤالات آزمون‌های پژوهش پاسخ دادند.

ملاک‌های ورود شامل سن ۶۵-۲۰ سال، طول مدت درد حداقل ۶ ماه، عدم تعیین علت واقعی درد (از قبیل سرطان، بیماری‌های روده، ورم مفاصل و ...) و یا عدم توجیه بهتر سایر تشخیص‌ها برای درد، برخورداری از سطح هوش طبیعی، توانایی حضور در جلسات درمان بودند. با توجه به این که تعداد اعضای گروه در گروه درمانی استاندارد ۱۵-۶ نفر است، تعداد استاندارد انتخاب شد و این ۳۰ نفر به طور تصادفی به دو گروه ۱۵ نفره‌ی مورد و شاهد تقسیم شدند. با گزینش تصادفی بیماران در گروه مورد و شاهد در واقع متغیرهای مزاحم وابسته به آزمودنی و شرایط کنترل شدند.

ملاک‌های خروج شامل سوء مصرف الکل یا مواد مخدر، همبودی بیماری‌های جسمانی توجیه کننده‌ی شدت درد یا اختلالات روان‌پزشکی شدید نظیر سایکوزها، شرکت در برنامه‌ی درمان روان‌شناختی همزمان دیگر، ایجاد مشکلات جسمانی در طول دوره که نیاز به بستری را ایجاب کند و یا عدم تمایل بیمار برای ادامه‌ی درمان بودند. اما در طول جلسات درمان، ۶ نفر از بیماران گروه مورد به علت انصراف، غیبت بیش از دو جلسه و واجد ملاک‌های خروج شدن و ۷ نفر از گروه شاهد به دلیل ملاک‌های خروج و عدم شرکت در مرحله‌ی پس آزمون، از نمونه‌ی پژوهش کنار گذاشته شدند. در نهایت، در مرحله‌ی پیگیری نیز -دو ماه پس از پایان دوره‌ی درمان- ۹ نفر از گروه مورد و ۸ نفر از گروه شاهد به سؤالات پرسش‌نامه‌های نهایی پاسخ دادند.

از این رو، داده‌های این پژوهش از نمونه‌ی ۱۷ نفری جمع‌آوری و گزارش شد. از این تعداد، ۳ نفر از سردرد، ۶ نفر از کمردرد، ۳ نفر از درد زانو و پا، ۲ نفر از درد شانه، ۱ نفر از درد مفاصل انگشتان دست، ۱ نفر از درد گردن و ۱ نفر از درد در نقاط مختلف بدن (فیبرومیالژیا) شکایت داشتند. میانگین سنی گروه، ۴۲ سال بود و این بیماران به طور متوسط ۴ سال از درد خود رنج می‌بردند.

بیماران، ابزارهای اندازه‌گیری زیر را پیش از درمان، پس از درمان و در پیگیری دو ماهه تکمیل کردند.

پرسش‌نامه‌ی پذیرش درد مزمن CPAQ یا (Chronic pain acceptance questionnaire): این پرسش‌نامه در سال ۲۰۰۴ توسط McCracken و Vowles تهیه شد و به طور گسترده در پژوهش‌های مرتبط با درد مزمن مورد استفاده قرار می‌گیرد. این پرسش‌نامه از ۲۰ مورد تشکیل شده است که هر یک در مقیاس ۷ درجه‌ای نمره‌گذاری می‌شوند. پرسش‌نامه‌ی پذیرش درد مزمن شامل دو خرده مقیاس است: الف- درگیری در فعالیت‌ها (یعنی پیگیری فعالیت‌های روزانه با وجود درد) و ب- پذیرش درد (یعنی عدم وجود نسبی تلاش‌ها برای اجتناب یا کنترل درد). ۱۱ مورد این پرسش‌نامه به پذیرش درد مربوط و مستقیم نمره‌گذاری می‌شود. در حالی که ۹ آیتم دیگر در فعالیت‌ها نمره‌گذاری معکوس دریافت می‌کنند (۱۶). Cronbach's alpha این پرسش‌نامه توسط Cascarilla برای درگیری در فعالیت و پذیرش درد، به ترتیب ۷۹ و ۷۵ درصد گزارش شده است (۱۷). در مطالعه‌ی پایلوت، پایایی درونی (با استفاده از روش Cronbach's alpha) این مقیاس ۷۴ به دست آمد.

فرم کوتاه مقیاس نشانگان اضطراب مرتبط با درد (PASS-۲۰ یا Pain anxiety symptoms scale): رفتارهای اجتنابی و ترس مرتبط با درد با استفاده از این فرم ارزیابی می‌شود. PASS دارای ۲۰ مورد است که فراوانی نشانگان را در یک مقیاس ۶ درجه‌ای (مثل تصور می‌کنم اگر دردم شدیدتر شود، هرگز کاهش نمی‌یابد) ارزیابی می‌کند. دامنه‌ی نمرات ۱۰۰-۰ است که نمرات بالاتر، بر اجتناب و اضطراب بیشتر دلالت دارد. این مقیاس از پایایی درونی ۸۱ درصد و اعتبار همگرا و واگرای ۹۵ درصد با فرم بلند آن و همچنین از اعتبار پیش‌بین و سازه‌ی مناسبی برخوردار است (۱۸).

در مطالعه‌ی پایلوت، پایایی درونی (با استفاده از روش Cronbach's alpha) این مقیاس ۷۳ درصد به دست آمد.

مقیاس شدت درد (Pain anxiety symptoms scale یا PIS): شدت درد با استفاده از یک مقیاس درجه‌بندی عددی ۰ (عدم وجود درد) تا ۱۰ (بدترین درد ممکن) ارزیابی شد. از بیماران خواسته می‌شد که متوسط درد روزانه‌ی خود را در هفته‌ی گذشته درجه‌بندی کنند. این شاخص به طور گسترده در پژوهش‌های مربوط به درد استفاده شده است (۱۸). در ایران نیز افشارزاده و همکاران روایی و پایایی این مقیاس را برای پژوهش‌های داخلی مناسب ارزیابی کرده‌اند (۱۹).

پرسش‌نامه‌ی جمعیت شناختی: این پرسش‌نامه شامل مواردی از قبیل سن، جنسیت و طول مدت درد (بر حسب ماه/سال) بود.

روش آماری در این پژوهش تحلیل کوواریانس بود که با نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۶ (version 16, SPSS Inc., Chicago, IL) انجام شد ودر آن تأثیر متغیر مورد وپیش آزمون‌ها بر متغیرهای شاهد برداشته شد وسپس گروه‌ها با هم مقایسه شدند.

یافته‌ها

شاخص‌های توصیفی مربوط به نمرات پیش آزمون و پس آزمون و پیگیری نمرات متغیرهای پژوهش در دو گروه مورد و شاهد در جدول ۱ آمده است.

به منظور بررسی معنی‌داری تفاوت‌ها بین نمرات متغیرهای وابسته‌ی دو گروه، از تحلیل کوواریانس چند متغیری استفاده گردید که نتایج در جدول ۲ آمده است.

همان‌طور که جدول ۲ نشان می‌دهد، دو گروه مورد و شاهد حداقل در یکی از ۹ متغیر مورد مقایسه دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشند ($P < ۰/۰۰۱$). برای مقایسه‌ی گروه‌ها از لحاظ تک تک متغیرها و بررسی فرضیه‌های پژوهش از تحلیل کوواریانس استفاده شد.

جدول ۱. نمرات پیش آزمون، پس آزمون و پیگیری به تفکیک گروه‌های نمونه

متغیر	گروه	تعداد	پیش آزمون	پس آزمون	پیگیری
			میانگین ± انحراف معیار	میانگین ± انحراف معیار	میانگین ± انحراف معیار
پذیرش درد	مورد	۹	۳۷/۲۲ ± ۱۴/۴۱	۹۰/۸۸ ± ۱۳/۶۶	۸۷/۴۴ ± ۱۵/۶۲
	شاهد	۸	۳۵/۵۰ ± ۱۴/۰۵	۳۴/۸۷ ± ۱۳/۱۰	۳۵/۸۷ ± ۱۳/۳۳
اضطراب مرتبط با درد	مورد	۹	۶۳/۰۰ ± ۱۵/۳۱	۴۱/۵۵ ± ۱۱/۳۰	۴۱/۲۲ ± ۱۰/۳۸
	شاهد	۸	۶۲/۱۲ ± ۲۲/۰۵	۶۳/۷۵ ± ۱۹/۸۴	۶۴/۱۲ ± ۲۰/۸۴
شدت درد	مورد	۹	۷/۶۶ ± ۱/۵۸	۴/۸۸ ± ۱/۰۵	۵/۲۲ ± ۱/۰۹
	شاهد	۸	۷/۰۰ ± ۱/۹۲	۷/۰۰ ± ۱/۶۰	۷/۵۰ ± ۱/۵۵

جدول ۲. نتایج کلی تحلیل کوواریانس چند متغیری در دو گروه مورد و شاهد از لحاظ نمرات پیش آزمون، پس آزمون و پیگیری در متغیرهای پژوهش

نام آزمون	مقدار	F	DF فرضیه	DF خطا	مقدار P	مجذور اتا	توان آماری
آزمون اثر پیلایی (Pillai's trace)	۰/۹۸۲	۶۳/۷۲۳	۶	۷	< ۰/۰۰۱	۰/۹۸۲	۱/۰۰۰
آزمون لامبدای ویلکز (Wilk's lambda)	۰/۰۱۸	۶۳/۷۲۳	۶	۷	< ۰/۰۰۱	۰/۹۸۲	۱/۰۰۰
آزمون اثر هتلینگ (Hoteling trace)	۵۴/۶۲۰	۶۳/۷۲۳	۶	۷	< ۰/۰۰۱	۰/۹۸۲	۱/۰۰۰

جدول ۳. نتایج تحلیل کوواریانس مربوط به میانگین نمرات پذیرش درد در دو گروه مورد و شاهد در پس آزمون و پیگیری

مرحله	گروه‌ها	درجه‌ی آزادی	میانگین مجذورات	F	مقدار P	مجذور اتا (میزان تأثیر)	توان آماری
پس آزمون	پیش آزمون	۱	۲۲۲۷/۴۵	۶۵/۷۴	< ۰/۰۰۱	۰/۸۲۴	۱/۰۰۰
	عضویت گروهی	۱	۱۲۵۴۶/۸۲	۳۷۰/۳۳	< ۰/۰۰۱	۰/۹۶۴	۱/۰۰۰
	خطا	۱۴	۳۳/۸۸	–	–	–	–
پیگیری	پیش آزمون	۱	۲۲۹۲/۷۴	۳۵/۴۱	< ۰/۰۰۱	۰/۷۱۷	۱/۰۰۰
	عضویت گروهی	۱	۱۰۵۷۶/۲۲	۱۶۳/۳۶	< ۰/۰۰۱	۰/۹۲۱	۱/۰۰۰
	خطا	۱۴	۶۴/۷۳	–	–	–	–

همان‌طور که جداول ۲ و ۳ نشان می‌دهند، بین میانگین‌های تعدیل شده‌ی نمرات پذیرش درد شرکت کنندگان بر حسب عضویت گروهی (گروه مورد و و گروه شاهد) در هر دو مرحله‌ی پس‌آزمون (F = ۳۷۰/۳۳) و پیگیری (F = ۱۶۳/۳۶) تفاوت معنی‌دار وجود دارد (P <۰/۰۰۱). بنابراین درمان پذیرش و تعهد بر افزایش پذیرش درد گروه مورد در پس آزمون و پیگیری تأثیر داشته است.

همان‌طور که در جدول ۴ آمده است، بین میانگین‌های تعدیل شده‌ی نمرات اضطراب مرتبط با درد شرکت کنندگان بر حسب عضویت گروهی (گروه مورد و گروه شاهد) در هر دو مرحله‌ی پس آزمون و پیگیری، تفاوت معنی‌دار وجود دارد (P < ۰/۰۰۰۱). بنابراین درمان پذیرش و تعهد بر کاهش اضطراب مرتبط با درد گروه مورد در پس آزمون و پیگیری تأثیر داشته است.

با توجه به یافته‌های جدول ۵، بین میانگین‌های تعدیل شده‌ی نمرات شدت درد شرکت کنندگان بر حسب عضویت گروهی (گروه مورد و گروه شاهد) در هر دو مرحله‌ی پس آزمون (F = ۲۷/۴۵) و پیگیری (F = ۸/۸۵) تفاوت معنی‌دار وجود دارد (P < ۰/۰۱۰).

بحث

نتایج این پژوهش نشان داد درمان گروهی پذیرش و تعهد، بر پذیرش درد، اضطراب مرتبط با درد و شدت درد بیماران مرد مبتلا به درد مزمن مؤثر است (جدول ۲). این نتایج با یافته‌های Vowles و McCracken که نشان دادند شرکت کنندگان در این درمان در درد، افسردگی، اضطراب مرتبط با درد، ناتوانی، مراجعه به پزشک، وضعیت کاری و کارکرد جسمانی نمرات بهتری را کسب می‌کنند (۱۳)، همسو است.

جدول ۴. نتایج تحلیل کوواریانس مربوط به میانگین نمرات اضطراب مرتبط با درد در دوگروه مورد و شاهد در پس آزمون و پیگیری

مرحله	گروه‌ها	درجه‌ی آزادی	میانگین مجذورات	F	مقدار P	مجذور اتا (میزان تأثیر)	توان آماری
پس آزمون	پیش آزمون	۱	۲۸۲۱/۷۹	۴۱/۳۲	< ۰/۰۰۱	۰/۷۴۷	۱/۰۰۰
	عضویت گروهی	۱	۲۲۰۶/۹۰	۳۲/۳۲	< ۰/۰۰۱	۰/۶۹۸	۱/۰۰۰
	خطا	۱۴	۶۸/۲۸	–	–	–	–
پیگیری	پیش آزمون	۱	۲۸۴۷/۶۱	۳۷/۵۸	< ۰/۰۰۱	۰/۷۲۹	۱/۰۰۰
	عضویت گروهی	۱	۲۳۴۶/۵۲	۳۰/۹۶	< ۰/۰۰۱	۰/۶۸۹	۰/۹۹۹
	خطا	۱۴	۷۵/۷۷	–	–	–	–

جدول ۵. نتایج تحلیل کوواریانس نمرات مربوط به میانگین نمرات شدت درد در دوگروه مورد و شاهد در پس آزمون و پیگیری

مرحله	گروه‌ها	درجه‌ی آزادی	میانگین مجذورات	F	مقدار P	مجذور اتا (میزان تأثیر)	توان آماری
پس آزمون	پیش آزمون	۱	۷/۵۷	۵/۴۹	۰/۰۳۴	۰/۲۸۲	۰/۵۸۷
	عضویت گروهی	۱	۲۳/۰۷	۱۶/۷۲	۰/۰۰۱	۰/۵۴۴	۰/۹۶۷
	خطا	۱۴	۱/۳۸	–	–	–	–
پیگیری	پیش آزمون	۱	۱۰/۲۰	۹/۳۰	۰/۰۰۹	۰/۳۹۹	۰/۸۱۰
	عضویت گروهی	۱	۱۷/۸۰	۱۶/۲۳	۰/۰۰۱	۰/۵۳۷	۰/۹۶۳
	خطا	۱۴	۱/۰۹	–	–	–	–

McCracken و Eccleston در بررسی اثربخشی یک درمان مبتنی بر پذیرش درد، بهبود معنی‌داری را در عملکرد هیجانی، اجتماعی و جسمانی بیماران و میزان استفاده‌ی آن‌ها از خدمات درمانی گزارش کردند و بهبود، با افزایش میزان پذیرش بیماران رابطه‌ی مستقیم داشت (۲۰).

Vowles و همکاران در پژوهش خود ۱۰۸ بیمار مبتلا به درد مزمن را تحت درمان قرار دادند و با بهره‌گیری از دو فرایند کلیدی پذیرش درد و عمل مبتنی بر ارزش، سه سال پس از پایان درمان به بررسی اثربخشی بلند مدت درمان خود پرداختند. نتایج نشانگر بهبود معنی‌دار در کارکرد جسمانی و هیجانی بیماران بلافاصله پس از شروع درمان بود و در مطالعه‌ی پیگیری سه ساله، ۶۴ درصد بیماران حداقل در یک زمینه بهبود پایداری داشتند (۲۱).

Dindo و همکاران ۴۵ بیمار مبتلا به میگرن و افسردگی را به یک کارگاه یک روزه‌ی پذیرش و تعهد و آموزش میگرن فراخواندند (۳۱ نفر گروه مورد و ۱۴ نفر گروه شاهد). شرکت کنندگان پرسش‌نامه‌ی نشانگان افسردگی، کارکرد عمومی و ناتوانی مرتبط با میگرن را قبل از شروع کارگاه و ۲، ۶ و ۱۲ هفته پس از درمان تکمیل کردند. نتایج نشان داد که در پیگیری سه ماهه‌ی گروه مورد نسبت به گروه شاهد به طور معنی‌داری در هر سه متغیر نمرات بهتری کسب کردند (۲۲).

اثربخشی ACT را می‌توان به واسطه‌ی فرایندهای حاکم بر این درمان تبیین کرد. یکی از مهم‌ترین تکنیک‌های این درمان، ذهن آگاهی است که به ویژه

در پروتکل درمانی این پژوهش تأکید بسیاری بر آن شد و در اغلب جلسات درمان، تمرین ذهن آگاهی انجام شد. پژوهش‌های متعددی تأثیر ذهن آگاهی بر بهبود بیماران درد مزمن را پررنگ کرده‌اند. برای مثال، McCracken و همکاران با بررسی نقش ذهن آگاهی بر رنج و ناتوانی مرتبط با درد مزمن، به این نتیجه رسیدند که پس از کنترل متغیرهای جمعیت‌شناختی، شدت درد و پذیرش درد، ذهن آگاهی می‌تواند واریانس نمرات افسردگی، اضطراب مرتبط با درد و ناتوانی‌های جسمانی و روانی را تبیین کند (۱۸).

Cho و همکاران نشان دادند که روش‌های ذهن آگاهی برای بیمارانی که اضطراب مرتبط با درد و در پی آن، ناتوانی دارند، مفید است (۲۳). Schutze و همکاران نیز تأکید کردند ذهن آگاهی به طور منفی و معنی‌داری شدت درد، عاطفه‌ی منفی، فاجعه پنداری درد، ترس مرتبط با درد، گوش به زنگ بودن برای درد و ناتوانی در کارکرد را پیش‌بینی و ۴۱-۱۷ درصد واریانس آن‌ها را تبیین می‌کند (۲۴). تحلیل رگرسیون سلسله مراتبی نشان داد که با کنترل سایر متغیرها، ذهن آگاهی به تنهایی فاجعه پنداری را پیش‌بینی و رابطه‌ی بین شدت درد و فاجعه پنداری را تعدیل می‌کند. در واقع، ذهن آگاهی از طریق کشاندن فرد به زمان حال و گسلش شناختی (دو فرایند اساسی در ACT)، او را از افکار و هیجانات منفی خود، آگاه می‌سازد و تأثیر آن‌ها را کاهش می‌دهد.

فرایند دیگری که در ACT بر آن تأکید می‌شود و نقش آن در این پروتکل درمانی نیز برجسته بود، تأکید بر عمل متعهدانه است. ترغیب بیماران به روشن کردن ارزش‌ها، تعیین اهداف، پیش‌بینی موانع و در نهایت، تعهد به انجام اعمالی در راستای دستیابی به اهداف و حرکت در جهت ارزش‌ها، با وجود درد (با پذیرش درد) باعث می‌شود تا ضمن تحقق اهداف و شادکامی ناشی از آن که بر رضایت از زندگی بیمار می‌افزاید، او را از گیر افتادن در حلقه‌ای از افکار و احساسات منفی (از قبیل اضطراب، فاجعه پنداری، یأس و افسردگی) که به نوبه‌ی خود باعث افزایش شدت درد وی نیز می‌شود (۲۶-۲۵) رهایی می‌بخشد.

این کارآزمایی بالینی محدود به بیماران مرد بود. همچنین طول دوره‌ی پیگیری نیز محدود به دو ماه بود؛ از این رو لازم است تعمیم داده‌ها به جنس مؤنث و نیز استنباط از پایداری اثر درمان، با احتیاط انجام شود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله بر خود لازم می‌دانند از ریاست و پرسنل مرکز تحقیقات روان تنی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، ریاست، مدیریت و کادر درمانی مراکز پزشکی وابسته به دانشگاه علوم پزشکی اصفهان به ویژه مرکز الزهرا (س) و بیمارانی که با علاقه در این پژوهش مشارکت کردند، تشکر نمایند. این پژوهش تحت شماره‌ی ۲۹۰۳۸۸ معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی اصفهان ثبت شده است.

References

1. Bowsher D. Pain: Management and Nursing Care. Trans. Sharoofi SA, Sajadi F, Boostani N. Tehran, Iran: Chehr Publication; 1995. [In Persian].
2. Wade JB, Price DD, Hamer RM, Schwartz SM, Hart RP. An emotional component analysis of chronic pain. Pain 1990; 40(3): 303-10.
3. Weisenberg M, Kreindler ML, Schachat R,

Werboff J. Pain: anxiety and attitudes in Black, white and Puerto Rican patients. Psychosom Med 1975; 37(2): 123-35.
4. Nash JM, Williams DM, Nicholson R, Trask PC. The contribution of pain-related anxiety to disability from headache. J Behav Med 2006; 29(1): 61-7.
5. Lister BJ. Dilemmas in the treatment of chronic pain. Am J Med 1996; 101(1A): 2S-5S.
6. Hayes SC. Acceptance and commitment therapy, relational frame theory, and the third wave of behavioral and cognitive therapies. Behavior Therapy 2004; 35(4): 639-65.
7. Hoffman BM, Papas RK, Chatkoff DK, Kerns RD. Meta-analysis of psychological interventions for chronic low back pain. Health Psychol 2007; 26(1): 1-9.
8. Hayes SC, Strosahl KD, Wilson KJ. Acceptance and Commitment Therapy: An Experiential Approach to Behavior Change. New York, NY: Guilford Press; 2003.
9. McCracken LM, Eccleston C. Coping or acceptance: what to do about chronic pain? Pain 2003; 105(1-2): 197-204.
10. Keogh E, Book K, Thomas J, Giddins G, Eccleston C. Predicting pain and disability in patients with hand fractures: comparing pain anxiety, anxiety sensitivity and pain catastrophizing. Eur J Pain 2010; 14(4): 446-51.
11. McCracken LM, Velleman SC. Psychological flexibility in adults with chronic pain: a study of acceptance, mindfulness, and values-based action in primary care. Pain 2010; 148(1): 141-7.
12. Veehof MM, Oskam MJ, Schreurs KM, Bohlmeijer ET. Acceptance-based interventions for the treatment of chronic pain: a systematic review and meta-analysis. Pain 2011; 152(3): 533-42.
13. Vowles KE, McCracken LM. Acceptance and values-based action in chronic pain: a study of treatment effectiveness and process. J Consult Clin Psychol 2008; 76(3): 397-407.
14. Wicksell RK, Olsson GL, Hayes SC. Mediators of change in acceptance and commitment therapy for pediatric chronic pain. Pain 2011; 152(12): 2792-801.
15. Wicksell RK, Melin L, Lekander M, Olsson GL. Evaluating the effectiveness of exposure and acceptance strategies to improve functioning and quality of life in longstanding pediatric pain--a randomized controlled trial. Pain 2009; 141(3): 248-57.
16. McCracken LM, Vowles KE, Eccleston C. Acceptance of chronic pain: component analysis and a revised assessment method. Pain 2004; 107(1-2): 159-66.
17. Cascarilla EA. Chronic pain-related distress and disability:an emprical investigation of a modern behavioral theory of acceptance of chronic pain [PhD Thesis]. Akron, OH: University in Akron, Ohio; 2009.
18. McCracken LM, Dhingra L. A short version of the Pain Anxiety Symptoms Scale (PASS-20): preliminary development and validity. Pain Res Manag 2002; 7(1): 45-50.
19. Afsharzadeh T, Rezaei S, Yousefzadeh SH. The relation between fear of movement and pain intensity with physical disability in chronic low back pain patients. J Rehab 2010; 11(2): 21-8. [In Persian].
20. McCracken LM, Eccleston C. A prospective study of acceptance of pain and patient functioning with chronic pain. Pain 2005; 118(1-2): 164-9.
21. Vowles KE, McCracken LM, O'Brien JZ. Acceptance and values-based action in chronic pain: a three-year follow-up analysis of treatment effectiveness and process. Behav Res Ther 2011; 49(11): 748-55.
22. Dindo L, Recober A, Marchman JN, Turvey C, O'Hara MW. One-day behavioral treatment for patients with comorbid depression and migraine: a pilot study. Behav Res Ther 2012; 50(9): 537-43.
23. Cho S, Heiby EM, McCracken LM, Lee SM, Moon DE. Pain-related anxiety as a mediator of the effects of mindfulness on physical and psychosocial functioning in chronic pain patients in Korea. J Pain 2010; 11(8): 789-97.
24. Schutze R, Rees C, Preece M, Schutze M. Low mindfulness predicts pain catastrophizing in a fear-avoidance model of chronic pain. Pain 2010; 148(1): 120-7.
25. McWilliams LA, Cox BJ, Enns MW. Mood and anxiety disorders associated with chronic pain: an examination in a nationally representative sample. Pain 2003; 106(1-2): 127-33.
26. Linton SJ. A review of psychological risk factors in back and neck pain. Spine (Phila Pa 1976) 2000; 25(9): 1148-56.

Journal of Isfahan Medical School Received: 15.05.2014

Vol. 32, No. 295, 4th Week, September 2014 Accepted: 11.08.2014

The Effectiveness of Group-Based Acceptance and Commitment Therapy on Pain-Related Anxiety, Acceptance of Pain and Pain Intensity in Patients with Chronic Pain

Mohammad Hasan Anvari Msc[1], Amrollah Ebrahimi PhD[2], Hamid Taher Neshatdoost PhD[3], Hamid Afshar MD[4], Ahmad Abedi PhD[5]

Original Article

Abstract

Background: Chronic pain is one of the most current multi-dimensional problems which its management requires medical and psychological interventions. This study aimed to evaluate the effectiveness of group-based acceptance and commitment therapy on pain-related anxiety, acceptance of pain and pain intensity in patients with chronic pain.

Methods: In a randomized clinical trial study, 30 patients met entry criteria were selected from medical centers affiliated to Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran, using purposive sampling. They were divided randomly into two groups. Research instruments were Chronic Pain Acceptance Questionnaire (CPAQ), Short Form of Pain-Related Anxiety Symptoms Scale (PASS-20), Pain Intensity Scale (PIS) and a demographic questionnaire. Experimental group were treated with acceptance and commitment therapy during the 8 sessions of 1.5 hours. Follow-up period was two months after the last treatment session.

Findings: Acceptance and commitment therapy showed a reduction in pain related anxiety and pain intensity and increase in acceptance of the pain ($P < 0.05$).

Conclusion: Findings indicates the effectiveness of this new behavioral therapy which is probably more appropriate for Iranian patients because of integrating behavioral therapy methods with eastern treatment techniques.

Keywords: Acceptance and commitment therapy, Chronic pain, Pain-related anxiety, Pain acceptance

Citation: Anvari MH, Ebrahimi A, Neshatdoost HT, Afshar H, Abedi A. **The Effectiveness of Group-Based Acceptance and Commitment Therapy on Pain-Related Anxiety, Acceptance of Pain and Pain Intensity in Patients with Chronic Pain.** J Isfahan Med Sch 2014; 32(295): 1156-65

1- Department of Psychology, School of Psychology and Education Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran
2- Assistant Professor, Psychosomatic Research Center AND Department of Psychiatry, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
3- Professor, Department of Psychology, School of Psychology and Education Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran
4- Associate Professor, Psychosomatic Research Center AND Department of Psychiatry, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
5- Assistant Professor, Department of Psychology, School of Psychology and Education Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran
Corresponding Author: Amrollah Ebrahimi PhD, Email: a_ebrahimi@med.mui.ac.ir

مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و دوم/شماره ۲۹۵/هفته چهارم شهریور ماه ۱۳۹۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۲/۲۱
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۵/۲۷

تأثیر محیط کشت بر فعالیت اسید فسفاتاز و خصوصیات این آنزیم در شکل عفونی پروماسیگوت‌های انگل لیشمانیا

امیر نوابی[۱]، دکتر سیمین دخت سلیمانی‌فرد[۲]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: لیشمانیوز جلدی مرطوب ناشی از آلودگی با لیشمانیا ماژور، یکی از شایع‌ترین بیماری‌های عفونی پوست در بسیاری از مناطق جهان می‌باشد. گزارش‌های موجود، حاکی از آن است که بعضی از خصوصیات پروماستیگوت‌های لیشمانیا از جمله زمان عفونی شدن پروماستیگوت‌های کشت داده شده در محیط کشت مصنوعی، تحت تأثیر نوع محیط کشت می‌باشد. با توجه به ضرورت استفاده از محیط کشت مصنوعی در اکثر مطالعاتی که روی لیشمانیا صورت می‌گیرد و همچنین نقش اسید فسفاتاز در عفونت‌زایی پروماستیگوت‌ها، در این مطالعه تأثیر محیط کشت بر زمان عفونی شدن و خصوصیات آنزیمی اسید فسفاتاز در پروماستیگوت‌های لیشمانیا ماژور بررسی گردید.

روش‌ها: این مطالعه یک مطالعه‌ی مقطعی بود و برای رسیدن به اهداف از پیش تعیین شده، انگل L.major (MRHO/IR/۷۵/ER) از موش‌های Balb/c از قبل آلوده شده به دو محیط کشت NNN (Novy-MacNeal-Nicolle) و RPMI۱۶۴۰ (Roswell Park memorial institute-۱۶۴۰) منتقل و به شکل پروماستیگوت رشد داده شد. سپس با رسم منحنی رشد، پروماستیگوت‌های مرحله‌ی ایستا جدا گردید. نمونه‌های جمع‌آوری شده از هر یک از محیط کشت‌ها پس از انجماد، همراه با بافر سدیم استات و Triton-X-۱۰۰ هموژنیزه شدند و پس از سانتریفیوژ، میزان فعالیت اسید فسفاتازدر مایع رویی به روش کالیمتری اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: پروماستیگوت‌های کشت داده شده در دو محیط NNN و RPMI۱۶۴۰ به ترتیب پس از گذشت ۷ و ۵ روز از شروع کشت، وارد مرحله‌ی ایستا شدند. میزان فعالیت اسید فسفاتاز در محیط NNN برابر ۰/۰۸ ± ۱/۰۲ و در محیط RPMI ۰/۰۱ ± ۱/۸۰ مساوی µM/min/mg protein به دست آمد. همچنین، Km (Michaelis–Menten) و Vmax (Maximum velocity) اسید فسفاتاز مرحله‌ی ایستا در پروماستیگوت‌های کشت داده شده در محیط NNN به ترتیب µM ۱/۱۱ ± ۱۰۵/۲۶ و µM/min/mg protein ۱/۴۸ ± ۹۸/۳۷ و در محیط کشت RPMI۱۶۴۰ به ترتیب µM ۱/۱۴ ± ۱۰۶/۳۹ و µM/min/mg protein ۰/۹۶ ± ۹۸/۰۴ بود.

نتیجه‌گیری: با وجود تفاوت در زمان عفونی شدن پروماستیگوت‌های کشت داده شده در محیط‌های NNN و RPMI۱۶۴۰ و همچنین تفاوت‌های گزارش شده در میزان آگلوتینه شدن پروماستیگوت‌ها، میزان سنتز آنزیم کیناز و قدرت عفونت‌زایی پروماستیگوت‌های کشت داده شده در محیط کشت‌های متفاوت، به نظر می‌رسد تفاوت قابل توجهی در خصوصیات آنزیمی اسید فسفاتاز پروماستیگوت‌های ایستای کشت داده شده در دو محیط کشت وجود ندارد.

واژگان کلیدی: لیشمانیا ماژور، محیط کشت، اسید فسفاتاز

ارجاع: نوابی امیر، سلیمانی فرد سیمین دخت. **تأثیر محیط کشت بر فعالیت اسید فسفاتاز و خصوصیات این آنزیم در شکل عفونی پروماسیگوت‌های انگل لیشمانیا.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۲۹۵): ۱۱۷۴-۱۱۶۶

۱- کارشناس ارشد، گروه انگل‌شناسی، بیمارستان الزهرا (س)، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲- گروه قارچ و انگل‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر سیمین دخت سلیمانی فرد
Email: s_soleimanifard@yahoo.com

مقدمه

انگل لیشمانیا تک یاخته‌ای از خانواده‌ی تریپانوزماتیده می‌باشد که گروهی از بیماری‌ها تحت عنوان لیشمانیوز را ایجاد می‌کند. این بیماری یکی از بیماری‌های شایع عفونی پوست در بسیاری از مناطق جهان است. سالیانه بیش از ۱۲ میلیون نفر از مردم جهان به این انگل آلوده می‌شوند (۱).

این انگل توسط نیش پشه‌ی خاکی آلوده به میزبان مهره‌دار منتقل می‌شود و در داخل سلول‌های بیگانه‌خوار تک هسته‌ای به شکل بدون تاژک به نام اماستیگوت زندگی می‌کند و تکثیر می‌یابد (۲). فرمی از انگل که درون روده‌ی پشه‌ی خاکی رشد می‌یابد و تکثیر می‌شود، فرم پروماستیگوت نام دارد، فلاژل‌دار و متحرک است و به صورت اجسام دوکی تاژک‌دار به طول ۲۵-۱۵ µ و عرض ۳-۲ µ می‌باشد. شکلی از پروماستیگوت‌ها که در مرحله‌ی رشد قرار دارند، شکل لگاریتمیک نامیده می‌شوند. این فرم از انگل پس از تکثیر در روده‌ی پشه‌ی خاکی، وارد مرحله‌ی ایستای رشد می‌شود و قدرت تکثیر خود را از دست می‌دهد و به صورت عفونت‌زا در می‌آید، سپس به حلق و حفره‌ی دهانی پشه مهاجرت می‌کند و آماده‌ی تلقیح به پوست میزبان مهره‌دار می‌شود که به آن فرم متاسیکلیک گفته می‌شود (۳).

در واقع، در طول مرحله‌ی رشد و تکثیر پروماستیگوت‌ها در دستگاه گوارش پشه‌ی خاکی، میزان عفونت‌زایی انگل تغییر می‌کند و از فرم غیر عفونی یا لگاریتمیک به فرم عفونت‌زا یا متاسیکلیک تبدیل می‌شود (۴).

فرم متاسیکلیک از نظر بسیاری از خصوصیات بیوشیمیایی و مورفولوژیکی با فرم لگاریتمیک غیر عفونت‌زا متفاوت می‌باشد. از جمله در مرحله‌ی متاسیکلیک تغییراتی در حفره‌ی تاژکی انگل ایجاد می‌شود. حفره‌ی تاژکی همه‌ی تریپانوزماتیده‌ها، ناحیه‌ای تخصص یافته است که واسطه‌ی آندوسیتوز و ترشح اسید فسفاتاز است (۵). اسید فسفاتاز ترشحی، فراوان‌ترین پروتئین ترشحی لیشمانیا است (۶). همچنین در غشای سطحی لیشمانیا نیز وجود دارد (۷). این آنزیم با دفسفریله کردن غشا و ممانعت از تولید H_2O_2 توسط ماکروفاژ، در زنده ماندن انگل درون ماکروفاژ بسیار حایز اهمیت است (۸).

اسید فسفاتاز باعث کاهش فعالیت ایمنی میزبان در ضایعات ناشی از لیشمانیوز جلدی می‌شود و به طور مستقیم در ویرولانس انگل نقش دارد (۹). علاوه بر آن اسید فسفاتاز ترشحی در زنده ماندن انگل در بدن پشه‌ی خاکی، شکل‌گیری و تکامل واکوئل پارازیتوفوروس و زنده ماندن اماستیگوت در آن نیز ایفای نقش می‌کند (۶). بنابراین چنین به نظر می‌رسد که اسید فسفاتاز یکی از ملکول‌های مؤثر در ایجاد قدرت بیماری‌زایی انگل می‌باشد.

انگل لیشمانیا در محیط کشت مصنوعی نیز به فرم پروماستیگوت رشد می‌کند. کشت انگل (In vitro culture) به معنای فراهم آوردن مجموعه‌ی شرایطی در محیط آزمایشگاه است که در آن شرایط، انگل تمام یا قسمتی از چرخه‌ی زندگی خود را خارج از بدن میزبان مناسب کامل کند. به طور معمول، این شرایط با استفاده از محیط‌های سنتتیک همراه با افزودنی‌های لازم در یک فلاسک کشت همراه می‌گردد. به این ترتیب، امکان دستیابی به تولید انبوه انگل فراهم می‌شود. دسترسی آسان به انگل

می‌تواند به انجام تحقیقات موفقیت‌آمیز در خصوص روش‌های درمانی قاطع، بررسی واکنش‌های متقابل میزبان و انگل، بررسی‌های بیوشیمیایی و ایمنولوژیکی و نیز تهیه‌ی واکسن کمک شایانی نماید (۱۰).

گزارش‌های موجود حاکی از آن است که بعضی از خصوصیات پروماستیگوت‌های لیشمانیا از جمله زمان عفونی شدن در محیط کشت، تحت تأثیر نوع محیط کشت می‌باشد (۱۱). از این رو، با توجه به ضرورت استفاده از محیط کشت جهت هر گونه مطالعه‌ی عامل بیماری از یک سو و از سوی دیگر، نقش اسید فسفاتاز در بروز اشکال عفونی، در بررسی حاضر تأثیر محیط کشت‌های NNN (Novy-MacNeal-Nicolle) و RPMI-۱۶۴۰ (Roswell Park memorial institute۱۶۴۰) بر زمان عفونی شدن و خصوصیات آنزیمی اسید فسفاتاز در پروماستیگوت‌های L.major مورد مطالعه قرار گرفت.

روش‌ها

این مطالعه از نوع مقطعی بود و در ابتدا برای حصول اهداف پیش‌بینی شده، ml ۰/۱ PBS (Phosphate buffered saline) حاوی ۲×۱۰^{۶} انگل L.major (MRHO/IR/۷۵/ER) موجود در گروه انگل‌شناسی دانشکده‌ی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان به قاعده‌ی دم موش‌های Balb/c به صورت زیر جلدی تلقیح شد. شمارش انگل‌ها با استفاده از لام نئوبار (Neobar) و در ناحیه‌ی شمارش گلبول‌های سفید انجام شد و تعداد انگل شمارش شده در $۱۰^{۴}$ ضرب شد تا تعداد انگل در ml به دست آید. سپس غلظت آن به نحوی تنظیم شد که تعداد مورد نیاز ذکر شده در بالا در ml ۰/۱ آن موجود باشد.

پس از گذشت ۴-۳ هفته در محل تلقیح، زخم ایجاد شد و انگل‌های به دست آمده از زخم و همچنین طحال موش به محیط کشت NNN اصلاح شده منتقل گردید (۱۲). این کار برای اجتناب از استفاده از انگل‌هایی که پاساژ زیاد داده شدند، انجام گرفت.

پس از گذشت ۴-۳ روز با ازدیاد تعداد انگل‌های کشت داده شده، بخشی از این ارگانیسم‌ها به محیط کشت RPMI۱۶۴۰ غنی شده با ۱۰ درصد سرم جنین گوساله (FCS یا Fetal calf serum) انتقال داده شد و در دمای $۲۶ \pm ۱\ ^{o}C$ اینکوبه گردید.

با شمارش روزانه‌ی انگل‌های کشت داده شده در هر دو محیط، منحنی رشد آن‌ها رسم شد و با توجه به منحنی رشد و همچنین مورفولوژی انگل‌ها، روز مناسب جهت جمع‌آوری پروماستیگوت‌های مرحله‌ی ایستا تعیین گردید.

تهیه‌ی نمونه

پروماستیگوت‌های مرحله‌ی ایستا در هر یک از دو محیط کشت استفاده شدند. به این منظور تعداد $۱۰^{۶} \times ۵$ پروماستیگوت در ml ۱ به روش گفته شده در قسمت قبل شمارش شد و به طور جداگانه در ویال‌های اپندورف جمع‌آوری گردید و پس از سه بار شستشو با PBS، ml ۱ بافر سدیم استات ۰/۱ M (pH = ۵/۲) و ۰/۱ Triton − x − ۱۰۰ درصد به پروماستیگوت‌های منجمد شده اضافه شد و به وسیله‌ی هموژنایزر تفلون، هموژنیزه و در g ۱۸۰۰۰ به مدت ۲۰ دقیقه در $۴\ ^{o}C$ سانتریفیوژ شد. سپس مایع رویی برای اندازه‌گیری اسید فسفاتاز جمع‌آوری گردید (۱۳).

اندازه‌گیری اسید فسفاتاز

جهت اندازه‌گیری اسید فسفاتاز از سوبسترای پارانیتروفنل فسفات استفاده شد (۱۲). طبق این روش، به ml ۲ محلول بافری استات mM ۱۰۰ با pH ۴/۵، مقدار ml ۱ از سوبسترای تهیه شده در قسمت قبل افزوده شد. پس از ۵ دقیقه انکوباسیون در ^{o}C ۲۷ با افزودن µl ۳۰۰ پارانیتروفنل فسفات mM ۱۲۵ واکنش شروع و پس از مدت ۱۰ دقیقه میزان جذب پارانیتروفنل حاصل در nm ۴۰۵ اندازه‌گیری شد و فعالیت آنزیم بر اساس µmol سوبسترای هیدرولیز شده در دقیقه در mg پروتئین (µM/min/mg protein) گزارش گردید.

از سرم کنترل راندوکس به عنوان شاهد استفاده گردید. تمام مراحل آزمایش ۵ بار تکرار شد و نقطه‌ی میانگین به عنوان نتیجه‌ی نهایی در نظر گرفته شد.

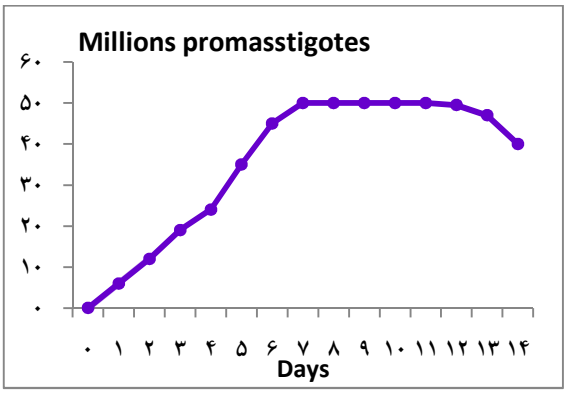
محاسبه‌ی ضریب ثابت Michaelis–Menten (Km) و سرعت بیشینه‌ی (Vmax) آنزیم اسید فسفاتاز

به این منظور، با استفاده از کیت اسید فسفاتاز (زیست شیمی) و طبق پروتکل موجود در آن، غلظت‌های سریالی از سوبسترای هر مرحله تهیه شد. به این صورت که غلظت‌های ۱۲۰۰ تا ۶۰۰، ۳۰۰ و ۱۵۰ به دست آمد. سپس فعالیت آنزیم در غلظت‌های متفاوت محاسبه و با رسم منحنی Michaelis–Menten مقدار Km و با رسم منحنی Lineweaver burk سرعت بیشینه یا Vmax (Maximum velocity) محاسبه گردید.

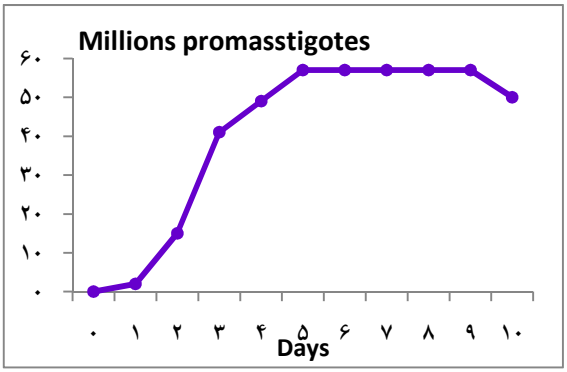
نتایج به دست آمده با استفاده از آزمون آماری Wilcoxon و نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۶ (version 16, SPSS Inc., Chicago, IL) تجزیه و تحلیل شد.

یافته‌ها

در این تحقیق نیاز به جداسازی مرحله‌ی ایستای انگل بود. این کار علاوه بر تکیه بر مشخصات مورفولوژی، بر پایه‌ی منحنی رشد انگل صورت گرفت. منحنی رشد پروماستیگوت‌ها در محیط کشت NNN در شکل ۱ و در محیط RPMI۱۶۴۰ در شکل ۲ نشان داده شده است. با توجه به منحنی رشد، پروماستیگوت‌های کشت داده شده در محیط NNN پس از ۷ روز وارد مرحله‌ی ایستا شدند و سپس از روز ۷ تا روز ۱۱ به مدت ۵ روز با ثابت ماندن تعداد پروماستیگوت‌ها در محیط کشت، مرحله‌ی ایستا ادامه داشت.



شکل ۱. منحنی رشد پروماستیگوت‌ها در محیط کشت NNN (Novy-MacNeal-Nicolle)



شکل ۲. منحنی رشد پروماستیگوت‌ها در محیط کشت RPMI۱۶۴۰ (Roswell Park memorial institute۱۶۴۰)

جدول ۱. میزان فعالیت، **Km** و **Vmax** آنزیم اسید فسفاتاز در دو محیط کشت

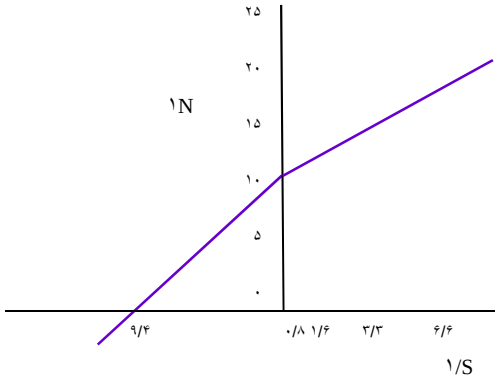
محیط کشت	NNN	RPMI۱۶۴۰
فعالیت اسید فسفاتاز (IU)	۱/۲۰ ± ۰/۰۸	۱/۸۰ ± ۰/۱۰
Km (µM)	۱۰۵/۲۶ ± ۱/۱۱	۱۰۶/۳۹ ± ۱/۱۴
Vmax (Mmol/min/mg protein)	۹۸/۳۷ ± ۱/۴۸	۹۸/۰۴ ± ۰/۹۶

NNN: Novy-MacNeal-Nicolle; ۱۶۴۰RPMI: ۱۶۴۰ Roswell Park memorial institute

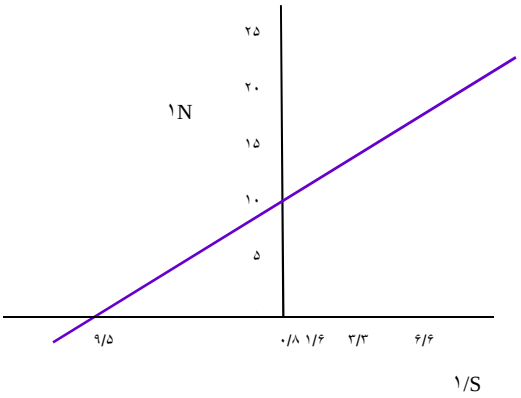
منحنی رشد پروماستیگوت‌ها در محیط کشت RPMI۱۶۴۰ نشان می‌دهد که پروماستیگوت‌ها از روز ۵ پس از شروع کشت وارد مرحله‌ی ایستا شدند و تا روز ۹ با ثابت بودن تعداد، در این مرحله باقی ماندند. سپس از روز ۹ کاهش تدریجی در تعداد پروماستیگوت‌ها مشاهده شد. با توجه به منحنی‌های رشد، پروماستیگوت‌های مرحله‌ی ایستا در محیط NNN در روز ۸ و در محیط RPMI۱۶۴۰ در روز ۶ پس از کشت، جمع‌آوری شدند.

میزان فعالیت آنزیم اسید فسفاتاز در پروماستیگوت‌های مرحله‌ی ایستای حاصل از دو محیط کشت، در جدول ۱ نشان داده شده است.

سرعت بیشینه‌ی (Vmax) آنزیم در دو محیط کشت با توجه به شکل‌های ۳ و ۴ به دست آمد که نتایج در جدول ۱ آمده است.

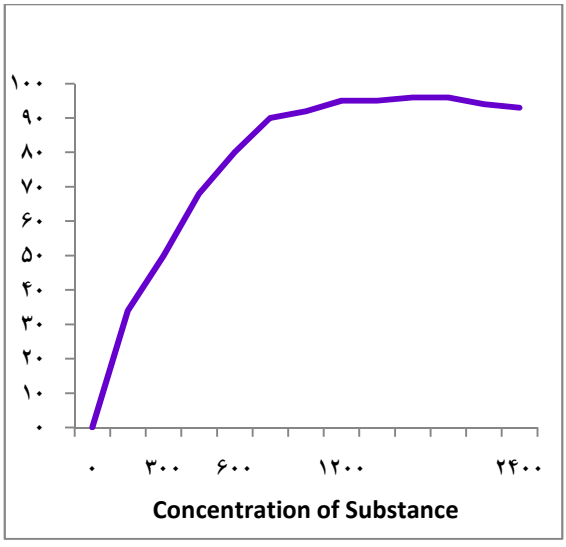


شکل ۳. منحنی لینوویرگ اسید فسفاتاز در مرحله‌ی ایستا در محیط RPMI۱۶۴۰ (Roswell Park memorial institute۱۶۴۰)

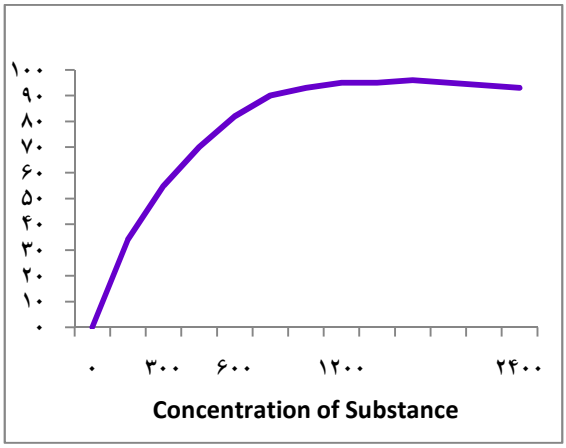


شکل ۴. منحنی لینوویرگ اسید فسفاتاز در مرحله‌ی ایستا در محیط NNN (Novy-MacNeal-Nicolle)

میزان Km آنزیم با توجه به شکل‌های ۵ و ۶ به دست آمد که در جدول ۱ آمده است.



شکل ۵. منحنی Michaelis–Menten آنزیم اسید فسفاتاز در مرحله‌ی ایستا در محیط RPMI۱۶۴۰ (Roswell Park ۱۶۴۰ memorial institute)



شکل ۶. منحنی Michaelis–Menten آنزیم اسید فسفاتاز در مرحله‌ی ایستا در محیط NNN (Novy-MacNeal-Nicolle)

بحث

در سال‌های اخیر با توجه به شیوع بیماری لیشمانیوز در بسیاری از مناطق و از سوی دیگر افزایش تعداد بیماران مبتلا به سندرم‌های نقص ایمنی، نیاز به تحقیقات و مطالعات در خصوص لیشمانیوز افزایش یافته و حجم زیادی از مطالعات، به جنبه‌های گوناگون لیشمانیوز اختصاص یافته است.

بخشی از مطالعات، شناسایی ارگانیسم عامل بیماری از زوایای گوناگون می‌باشد. با توجه به این که انگل لیشمانیا در بدن میزبان بی‌مهره و همچنین محیط کشت به فرم پروماستیگوت رشد می‌کند، استفاده از محیط کشت‌های مختلف در مورد این انگل نقش بزرگی در انجام تحقیقات گوناگون دارد؛ چرا که با استفاده از محیط کشت می‌توان به حجم انبوهی از انگل دست یافت.

در بررسی حاضر، تأثیر احتمالی محیط بر مراحل رشد انگل و خصوصیات اسید فسفاتاز انگل L.major مورد بررسی قرار گرفت. نتایج به دست آمده نشان می‌دهد که اگر چه مرحله‌ی ایستا در پروماستیگوت‌های کشت داده شده در محیط‌های RPMI۱۶۴۰ و NNN به ترتیب روز ۵ و ۷ پس از شروع کشت آغاز می‌شود و طول مرحله‌ی ایستا در پروماستیگوت‌های کشت داده در محیط RPMI۱۶۴۰، ۴ روز و در محیط NNN، ۵ روز می‌باشد، اما از نظر آماری تفاوت معنی‌داری بین خصوصیات آن‌ها وجود ندارد.

محیط کشت دو مرحله‌ای NNN حاوی خون دفیبرینه‌ی خرگوش می‌باشد. طبق گزارش‌های موجود، هموگلوبین موجود در خون موجب کاهش فعالیت آنزیم کیتیناز و کاهش رشد در بعضی سوش‌های L.major می‌شود (۱۴). همچنین وجود هموگلوبین در محیط کشت، موجب به تأخیر افتادن روند عفونی شدن پروماستیگوت‌ها می‌گردد (۱۵).

Schlein و Jacobson گزارش نموده‌اند که عفونی شدن پروماستیگوت‌ها در دستگاه گوارش پشه‌ی خاکی، همزمان با فعال شدن آنزیم کیتیناز انگل می‌باشد و این زمانی است که خون خورده شده به وسیله‌ی پشه‌ی خاکی به طور کامل هضم شده باشد (۱۵).

وجود مرحله‌ی ایستا که حاصل آن پروماستیگوت‌های متاسیکلیک می‌باشد، در پروماستیگوت‌های ساکن دستگاه گوارش پشه‌ی خاکی به اثبات رسیده است؛ اما پایان مشخصی برای این مرحله به طور طبیعی در دستگاه گوارش پشه‌ی خاکی نشان داده نشده است. احتمال می‌رود وجود پایان مشخص برای این مرحله در محیط کشت مصنوعی، از کاهش تقسیم سلولی پروماستیگوت‌ها به طور طبیعی و همچنین لیز شدن تعدادی از آن‌ها به دلیل نامناسب بودن شرایط محیط کشت در اثر گذشت زمان باشد. به علاوه ورود مواد حاصل از متابولیسم انگل به داخل محیط کشت، می‌تواند اثر کشنده بر روی پروماستیگوت‌ها داشته باشد و ترشح

بعضی از مواد موجب تغییر pH محیط شود و ادامه‌ی حیات پروماستیگوت‌ها را غیر ممکن سازد.

بنابراین همان‌گونه که در نتایج حاصل از این تحقیق مشاهده شد، به نظر می‌رسد که چون به پایان رسیدن مرحله‌ی ایستا در محیط کشت مصنوعی، ناشی از فعالیت خود انگل می‌باشد، نوع محیط کشت تأثیر چشمگیری بر طول دوره‌ی ایستا در منحنی رشد پروماستیگوت‌ها ندارد. البته خون موجود در NNN تفاوت اندکی را بین این دو محیط کشت از نظر زمان شروع و طول مرحله‌ی ایستا ایجاد کرده است.

Sacks و همکاران گزارش نمودند که ساختمان لیپو فسفو گلیکان (LPG یا Lipo phospho glycan) در پروماستیگوت‌ها تا حدودی تحت تأثیر محیط کشت مصنوعی و شرایط حاکم بر آن می‌باشد (۱۶). شرایط محیط کشت می‌تواند توانایی پروماستیگوت‌های متاسیکلیک را برای عدم آگلوتینه شدن به وسیله‌ی لکتین بادام کوهی -که از ویژگی‌های پروماستیگوت‌های مرحله‌ی ایستا می‌باشد- تحت تأثیر قرار دهد (۱۷).

همچنین بعضی از گزارش‌ها حاکی از آن است که محیط کشت می‌تواند بر میزان قدرت عفونت‌زایی پروماستیگوت‌ها تأثیر بگذارد؛ به طوری که پروماستیگوت‌های رشد یافته در بعضی از محیط کشت‌ها از جمله NNN دارای قدرت آلوده کنندگی کمتری در مقایسه با محیط کشت DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's medium) می‌باشد (۱۸).

با وجود گزارش‌های پیش‌گفته، نتایج به دست آمده در این بررسی نمایانگر آن است که اگر چه زمان عفونی شدن پروماستیگوت‌ها در دو محیط کشت متفاوت می‌باشد؛ اما تفاوت قابل توجهی در میزان فعالیت آنزیم اسید فسفاتاز و نیز Km و Vmax این آنزیم در پروماستیگوت‌های رشد یافته در دو محیط کشت وجود ندارد ($P < ۰/۰۵۰$) و به نظر می‌رسد محیط کشت تأثیری بر فعالیت اسید فسفاتاز نداشته باشد.

نتیجه‌ی نهایی این که طول مرحله‌ی ایستا و همچنین زمان شروع این مرحله در پروماستیگوت‌های رشد یافته در دو محیط کشت با یکدیگر تفاوت اندکی دارد که از نظر آماری این تفاوت معنی‌دار نمی‌باشد. همچنین بین میزان فعالیت آنزیم اسید فسفاتاز و نیز Km و Vmax آن نیز تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. بنابراین از آن جا که لیشمانیا یک انگل پیچیده و ناشناخته می‌باشد و تحقیقات در زمینه‌های مختلف روی آن الزامی به نظر می‌رسد، با توجه به نتایج این تحقیق، استفاده از هر یک از دو محیط کشت NNN و RPMI۱۶۴۰ که محیط کشت‌های در دسترس می‌باشند، در خصوص تحقیقات روی خصوصیت اسید فسفاتاز و نقش آن در فیزیولوژی انگل میسر می‌باشد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی شماره‌ی ۸۱۱۰۶ مصوب معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی اصفهان است و هزینه‌ی اجرای آن، توسط این معاونت تأمین شده است. بدین وسیله از حمایت‌های مالی این دانشگاه طی انجام این تحقیق قدردانی می‌شود. همچنین لازم است از پیشنهادها و راهنمایی‌های آقایان دکتر مهدی بقایی و دکتر منوچهر مصری‌پور در طول اجرای مطالعه و نیز تهیه و تنظیم این مقاله صمیمانه تشکر و قدردانی شود.

References

1. do Monte-Neto RL, Coelho AC, Raymond F, Legare D, Corbeil J, Melo MN, et al. Gene expression profiling and molecular characterization of antimony resistance in Leishmania amazonensis. PLoS Negl Trop Dis 2011; 5(5): e1167.
2. Bern C, Maguire JH, Alvar J. Complexities of assessing the disease burden attributable to leishmaniasis. PLoS Negl Trop Dis 2008; 2(10): e313.
3. Wilson R, Bates MD, Dostalova A, Jecna L, Dillon RJ, Volf P, et al. Stage-specific adhesion of Leishmania promastigotes to sand fly midguts assessed using an improved comparative binding assay. PLoS Negl Trop Dis 2010; 4(9).
4. Rogers ME, Chance ML, Bates PA. The role of promastigote secretory gel in the origin and transmission of the infective stage of Leishmania mexicana by the sandfly Lutzomyia longipalpis. Parasitology 2002; 124(Pt 5): 495-507.
5. Bates PA, Hermes I, Dwyer DM. Leishmania donovani: immunochemical localization and secretory mechanism of soluble acid phosphatase. Exp Parasitol 1989; 68(3): 335-46.
6. Fernandes AC, Soares DC, Saraiva EM, Meyer-Fernandes JR, Souto-Padron T. Different secreted phosphatase activities in Leishmania amazonensis. FEMS Microbiol Lett 2013; 340(2): 117-28.
7. Dutra PM, Dias FA, Rodrigues CO, Romeiro A, Attias M, De SW, et al. Platelet-activating factor modulates a secreted phosphatase activity of the trypanosomatid parasite Herpetomonas muscarum muscarum. Curr Microbiol 2001; 43(4): 288-92.
8. Baghaei M, Mesripour M. Characterization of acid phosphatase in the promastigotes of three isolates of leishmania major . Iran J Med Sci 2003; 28(1): 1-8.
9. el-On J, Sneier R, Elias E. Leishmania major: bacterial contamination of cutaneous lesions in experimental animals. Isr J Med Sci 1992; 28(12): 847-51.
10. Soleimanifard S, Arjmand R, Hejazi SH. Investigation and comparison of Leishmania major promastigote and amastigote protein content by sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis. Sci J Hamadan Univ Med Sci 2013; 20 (1): 1-8. [In Persian].
11. Dey T, Afrin F, Anam K, Ali N. Infectivity and virulence of Leishmania donovani promastigotes: a role for media, source, and strain of parasite. J Eukaryot Microbiol 2002; 49(4): 270-4.
12. Sarkari B, Chance M, Hommel M. Antigenuria in visceral leishmaniasis: detection and partial characterisation of a carbohydrate antigen. Acta Trop 2002; 82(3): 339-48.
13. Rezazadeh MF, Shakeri R, Kaboudanian AS, Tahghighi A, Foroumadi A. In vitro immunobiological studies of novel 5-(5-nitrofuran-2-yl)-1, 3, 4-thiadiazoles with piperazinyl-linked benzamidine substituents against Leishmania major. Iran J Allergy Asthma Immunol 2013; 12(4): 368-76.
14. Sant'anna MR, Nascimento A, Alexander B, Dilger E, Cavalcante RR, Diaz-Albiter HM, et al. Chicken blood provides a suitable meal for the sand fly Lutzomyia longipalpis and does not inhibit Leishmania development in the gut. Parasit Vectors 2010; 3(1): 3.
15. Schlein Y, Jacobson RL. Haemoglobin inhibits the development of infective promastigotes and chitinase secretion in Leishmania major cultures. Parasitology 1994; 109 (Pt 1): 23-8.
16. Sacks DL, Modi G, Rowton E, Spath G, Epstein L, Turco SJ, et al. The role of phosphoglycans in Leishmania-sand fly interactions. Proc Natl Acad Sci U S A 2000; 97(1): 406-11.
17. Kbaier-Hachemi H, Guerbouj S, Turki-Mannoubi L, Kaabi B, Guizani I. In vitro growth kinetics, differentiation and morphological characterisation of Tunisian Leishmania infantum parasites. Trans R Soc Trop Med Hyg 2012; 106(1): 20-5.
18. Sysoev VV. A comparison of the growth of Leishmania major, L. turanica and L. gerbilli on NNN medium. Med Parazitol (Mosk) 1995; (1): 13-7. [In Russian].

Journal of Isfahan Medical School Received: 11.05.2014

Vol. 32, No. 259, 4th Week, September 2014 Accepted: 18.08.2014

The Effect of Medium in Properties and Activity of Acid Phosphatase (ACP) in the Infective Form of Leishmania Major Promastigotes

Amir Navabi MSc[1], Simindokht Soleimanifard PhD[2]

Original Article

Abstract

Background: The wet cutaneus leishmaniasis caused by Leishmania major infection is one of the common skin diseases in many parts of the world. Reports indicate that some properties of Leishmania, such as time of infection, is affected of medium. Respecting the use of artificial medium in the majority of the studies on Leismania, and the role of acid phosphatase (ACP) in the pathogenesis of promastigotes, in this research, we studied the effects of medium in properties of acid phosphatase and time of infecting in Leishmania major promastigotes.

Methods: In this cross-sectional study, to culture promastigotes, Leishmania major (MRHO/IR/75/ER) from previously infected Balb/c mice was transferred to NNN (Novy-MacNeal-Nicolle) and RPMI1640 (Roswell Park memorial institute) medium. Growth curve was generated and stationary stages were divided. Frozen promastigotes of each medium were homogenized using sodium acetate and Triton-X-100 and acid phosphatase was measured via calorimetric assay.

Findings: Stationary parasites were collected in NNN and RPMI-1640 medium in seventh and fifth day, respectively. The rate of acid phosphatase activity was determined as 1.02±0.08 in NNN and 1.8 ± 0.01 in RPMI-1640. Also, Km (Michaelis–Menten) and Vmax (Maximum velocity) of this enzyme was 105.26 ± 1.11 µM and 98.37 ± 1.48 µM/min/mg protein in NNN and 106.39 ± 1.14 µM and 98.04 ± 0.96 µM/min/mg protein in RPMI1640.

Conclusion: Despite the infecting time in promastigotes, rate of agglutination, rate of kinase synthesis and virulent are different in two mediums. It seems that there are no significant differences in properties of acid phosphatase in stationary promastigotes in the two mediums.

Keywords: Leishmania major, Media culture, Acid phosphatase, Virulence

Citation: Navabi A, Soleimanifard S. **Effect of Medium in Properties and Activity of ACP in the Infective Form of Leishmania Major Promastigotes.** J Isfahan Med Sch 2014; 32(295): 1166-74

1- Department of Parasitology and Mycology, Alzahra Hospital, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
2- Department of Parasitology and Mycology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
Corresponding Author: Simindokht Soleimanifard PhD, Email: s_soleimanifard@yahoo.com

مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و دوم/شماره ۲۹۵/هفته چهارم شهریور ماه ۱۳۹۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۳/۴
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۶/۱

تعیین فراوانی سویه‌های MDR اسینتوباکتر بومانی ایزوله شده از بخش مراقبت‌های ویژه (ICU) بیمارستان‌های شهر اصفهان با روش مولکولی و بررسی الگوی مقاومت دارویی آن‌ها

حسن قجاوند[۱]، اصغر هوایی[۲]، دکتر بهرام نصر اصفهانی[۲]، دکتر حسین فاضلی[۲]، دکتر شراره مقیم[۲]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: اسینتوباکتر بومانی از مهم‌ترین پاتوژن‌ها در عفونت‌های کسب شده‌ی بیمارستانی به خصوص در بخش مراقبت‌های ویژه است. این پاتوژن فرصت طلب به راحتی از خاک، آب و تجهیزات بیمارستانی جدا می‌شود و به اکثر آنتی‌بیوتیک‌های وسیع‌الطیف مقاومت نشان می‌دهد. هدف از این مطالعه، تعیین فراوانی اسینتوباکتر بومانی ایزوله شده از بخش مراقبت‌های ویژه (ICU یا Intensive care unit) و تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی آن‌ها بود.

روش‌ها: در طول دوره‌ی یک ساله‌ی ۹۲-۱۳۹۱، تعداد ۳۵۰ نمونه از بیماران بستری در واحد مراقبت‌های ویژه‌ی بیمارستان‌های شهر اصفهان به دست آمد. تعیین خصوصیات نمونه‌ها به عنوان اسینتوباکتر، با استفاده ازآزمایش‌های فنوتیپی و بیوشیمیایی صورت گرفت و ایزوله‌ها با اثبات وجود ژن like OXA-۵۱ توسط تکنیک PCR (Polymerase chain reaction) تأیید شدند. آزمایش حساسیت آنتی‌بیوتیکی به روش دیسک دیفیوژن طبق دستورالعمل CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) انجام گرفت.

یافته‌ها: از ۳۵۰ نمونه‌ی جدا شده از بیماران، ۴۳ نمونه‌ی اسینتوباکتر بومانی شناخته شد. میزان فراوانی الگوهای ضد میکروبی جدایه‌ها نشان داد که ۵۳/۵ درصد ایزوله‌ها به آمیکاسین، ۸۳/۷ درصد به تتراسایکلین، ۸۶/۰ درصد به سفتازیدیم، ۹۰/۷ درصد به تری‌متوپریم سولفامتوکسازول و ۹۳/۰ درصد به ایمی‌پنم، مروپنم، سفیپیم و آمپی سیلین سولباکتام مقاوم بودند و همچنین تمام جدایه‌ها به سیپروفلوکسازین مقاوم بودند. تمامی اسینتوباکترهای جدا شده از ICU بیمارستان‌های شهر اصفهان، مقاوم به چند دارو (MDR یا Multi-drug resistance) بودند.

نتیجه‌گیری: این مطالعه مقاومت بالای اسینتوباکتر بومانی به طیف وسیع آنتی‌بیوتیک‌ها را نشان داد. از این رو، استراتژی مناسب جهت کنترل انتشار باکتری در بخش مراقبت‌های ویژه و سایر بخش‌ها ضروری به نظر می‌رسد.

واژگان کلیدی: اسینتوباکتر بومانی، Polymerase chain reaction، مقاومت دارویی، Intensive care unit

ارجاع: قجاوند حسن، هوایی اصغر، نصر اصفهانی بهرام، فاضلی حسین، مقیم شراره. **تعیین فراوانی سویه‌های MDR اسینتوباکتر بومانی ایزوله شده از بخش مراقبت‌های ویژه (ICU) بیمارستان‌های شهر اصفهان با روش مولکولی و بررسی الگوی مقاومت دارویی آن‌ها.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۲۹۵): ۱۱۸۵-۱۱۷۵

* این مقاله حاصل پایان‌نامه‌ی دوره‌ی کارشناسی ارشد به شماره‌ی ۳۹۲۲۰۳ در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان است.

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه میکروب‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی و کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲- دانشیار، گروه میکروب‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر شراره مقیم
Email: moghim@med.mui.ac.ir

مقدمه

اسینتوباکتر بومانی یک باکتری گرم منفی غیر تخمیری به صورت کوکسی یا کوکوباسیل، بی‌حرکت و کاتالاز مثبت است که در خاک، آب، فاضلاب و بسیاری از محیط‌های بهداشتی- درمانی یافت می‌شود. این باکتری به صورت فلور طبیعی پوست و غشای مخاطی در انسان است و قادر می‌باشد عفونت‌های فرصت‌طلب از جمله پنومونی، مننژیت، سپتی سمی و عفونت دستگاه ادراری ایجاد کند (۲-۱).

میزان استقرار اسینتوباکتر بومانی در افراد بستری شده در بیمارستان، به ویژه بیمارانی که مدت بستری شدن آن‌ها به درازا کشیده و یا تحت درمان ضد میکروبی وسیع یا سرطان قرار گرفته‌اند در حال افزایش است (۳). اسینتو باکتربومانی نسبت به دهیدراتاسیون، اشعه‌ی UV (Ultraviolet)، ضد عفونی کننده‌های شیمیایی رایج و دترجنت‌ها مقاوم است. حذف و ریشه‌کنی آلودگی‌های اسینتوباکتر بومانی از محیط‌های بیمارستانی به ویژه وسایل مرتبط با کاتتر که در بخش ICU (Intensive care unit) بیمارستان‌ها استفاده می‌شود، بسیار مشکل است. هیچ روش قابل دسترسی رایج برای حذف این باکتری در محیط‌های بیمارستانی، با خطر عفونت بالا به اسینتوباکتر بومانی MDR (Multi drug resistance)، وجود ندارد (۵-۴). عفونت با اسینتوباکتر بومانی در فضای بیمارستان، بیشتر مجاری تنفسی فوقانی را درگیر می‌کند. همچنین اسینتوباکتر بومانی می‌تواند عفونت‌های بیمارستانی مجاری ادراری و عفونت‌های زخم نیز ایجاد کند. عدم درمان عفونت با اسینتوباکتر بومانی ممکن است منجر به وقوع سپتی سمی و باکتریمی شود (۶). اسینتوباکتر تا مدت‌ها می‌تواند در محیط بیمارستان باقی بماند و بین بیماران انتقال یابد (۷).

امروزه اسینتوباکتر بومانی به طور چشمگیری به صورت اندمیک و اپیدمیک در بیمارستان‌ها وجود دارد (۹-۸). اسینتوباکتر بومانی می‌تواند در شرایط خشکی زنده بماند و در طی شیوع از نواحی مختلف محیط بیمار برای مثال پرده، تخت خواب، مبلمان و تجهیزات بیمارستان بازیابی شود. تمیز کردن و ضد عفونی کردن اتاق‌های بیمار موجب متوقف کردن شیوع بیماری می‌شود (۱۱-۱۰). اسینتوباکتر بومانی می‌تواند از طریق هوا و از پوست بیماران کلونیزه شده پراکنده شود؛ اما شایع‌ترین مدل انتقال، از دستان کارکنان بیمارستان است (۱۳-۱۲).

افزایش شیوع مقاومت چند دارویی (MDR) و مقاومت به همه‌ی داروها (Pan drug) در سویه‌های اسینتوباکتربومانی در مراکز درمانی رو به افزایش است و به عنوان یکی از پاتوژن‌های مهم بیمارستانی بعد از سودوموناس آئروژینوزا قرار گرفته است (۱۵-۱۴). درمان عفونت های اسینتوباکتر، اغلب در مواردی که فنوتیپ‌های مقاومت MDR است، مشکل می‌باشد. اولین بار در سال ۱۹۹۱، گزارش مقاومت آنتی‌بیوتیکی اسینتوباکتر به کاربا‌پنم‌ها در ایالات متحده، موجب نگرانی همگان شد. کاربا‌پنم‌ها از آنتی‌بیوتیک‌های خانواده‌ی بتالاکتام می‌باشند که نسبت به آنزیم‌های بتالاکتاماز تولید شده توسط باکتری‌ها از جمله اسینتوباکترها حساس می‌باشند (۱۶).

در حال حاضر، کاربا‌پنم‌ها به عنوان داروی انتخابی در درمان عفونت‌های اسینتوباکتر مقاوم به چند دارو، استفاده می‌گردند. هرچند، مقاومت به کاربا‌پنم نیز رو به افزایش می‌باشد (۱۸-۱۷). این باکتری متالوبتالاکتامازهایی را تولید می‌کند

(IMP-VIM و انواع SIM) که در سرتاسر جهان گزارش شده است و موجب مقاومت به اکثر بتالاکتام‌ها می‌شود (۲۰-۱۹).

کاهش حساسیت به کارباپنم‌ها همچنین در ارتباط با تغییر پروتئین‌های متصل شونده به پنی سیلین‌ها و پورین‌ها است و پیشنهاد شده است که فعل و انفعال مکانیسم‌های مختلف ممکن است موجب مقاومت به کاربـاپنم سطح بالا در اسینتوباکتر بومانی شود. آنزیم‌هایی مانند OXA-۵۱ به صورت ذاتی در اسینتوباکتر وجود دارد. همچنین سه گروه غیر مرتبط آنزیم اگزاسیلیناز هیدرولیز کننده‌ی کاربـاپنم‌ها مشخص شده است که به صورت OXA-۲۳، OXA-۲۴ و OXA-۵۸ نشان داده می‌شوند (۲۱).

از آن جایی که داشتن اطلاعات جغرافیایی در خصوص الگوی مقاومت اسینتوباکتر، امکان انتخاب داروی درمانی مناسب برای آن ناحیه فراهم می‌سازد، هدف از این تحقیق، تعیین مقاومت آنتی بیوتیکی سویه‌های اسینتوباکتر بومانی جدا شده از بیماران بستری در بخش مراقبت‌های ویژه‌ی بیمارستان‌های شهراصفهان بود.

روش‌ها

در طول دوره‌ی یک ساله‌ی ۹۲-۱۳۹۱، تعداد ۳۵۰ نمونه از بیماران بستری در واحد مراقبت‌های ویژه‌ی بیمارستان‌های شهر اصفهان به دست آمد. پس از جداسازی و خالص‌سازی جدایه‌ها بر روی محیط کشت Blood Agar (ساخت شرکت Merck) و MacConkey agar (ساخت شرکت Merck)، از کیت رنگ‌آمیزی گرم استفاده شد. سپس روی نمونه‌های مشکوک به اسینتوباکتر آزمایش‌های فنوتیپی (اکسیداز، مصرف سیترات، هیدرولیز اوره، استفاده از مالونات، اکسیداسیون و فرمانتاسیون قندها، حرکت و تولید اندول) صورت گرفت. برای تأیید گونه از روش PCR (Polymerase chain reaction) برای بررسی حضور ژن OXA-۵۱ like استفاده گردید. برای این منظور، DNA ایزوله‌ها با استفاده از کیت (Fermentas) بر اساس پروتکل شرکت سازنده استخراج گردید. جهت تکثیر ژن blaoxa۵۱ از جفت پرایمر ۵'-TAA TGC TTT GAT CGG CCT TG :F و ۵'-CTT CG TGG ATT CGA CTT CAT :R استفاده گردید (۲۲).

واکنش PCR در حجم نهایی ۲۵ µl در حضور ۱ µl DNA (۵۰ ng)، ۲/۵ µl بافر ۱۰x PCR buffer، ۱ µl (۱۰ pmol/ul) هر پرایمر، ۲ µl (۲۰۰ µM) dNTP، ۰/۳ µl (۵۰۰ U) Taq DNA polymerase، ۱ µl ($MgCl_2$ (۱/۵ mM) و ۱۶/۲ µl آب مقطر دوبار تقطیر استریل استفاده شد. از سویه‌ی ATCC ۱۹۶۰۶ اسینتوباکتر بومانی به عنوان شاهد مثبت و شاهد منفی P.aeruginosa ATCC ۲۷۸۵۳ استفاده شد. در این روش، PCR با استفاده از دستگاه DNA thermal cycler (Master cycle gradiant, eppendrof, Germany) به صورت زیر انجام شد:

مرحله‌ی Initial denaturation به مدت ۵ دقیقه در دمای ^{o}C ۹۴ صورت گرفت. مرحله‌ی Denaturation به مدت ۲۵ ثانیه در دمای ^{o}C ۹۴، مرحله‌ی Annealing به مدت ۴۰ ثانیه در دمای ^{o}C ۵۳، مرحله‌ی Extension به مدت ۵۰ ثانیه در دمای ^{o}C ۷۲، ۳۰ سیکل تکرار گردید و مرحله‌ی Final extension به مدت ۶ دقیقه در دمای ^{o}C ۷۲ انجام گردید. برای تجزیه و تحلیل محصولات PCR از روش الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد با

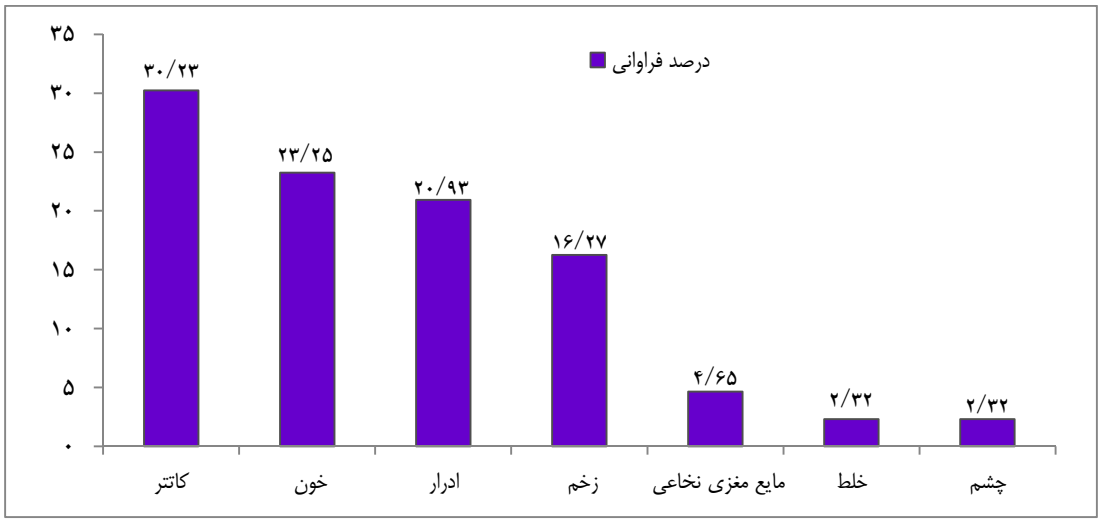
بافر TBE ۱X (Tris-borate-EDTA) و رنگ‌آمیزی توسط Green viewer و مشاهده در زیر نور ماورای بنفش استفاده گردید. بر روی تمامی سویه‌های اسینتوباکتر بومانی، آزمایش حساسیت آنتی‌بیوتیکی به روش انتشار دیسک یا Kirby-Bauer طبق دستورالعمل CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) انجام گرفت. برای این منظور، از آنتی‌بیوتیک‌های آمیکاسین، تتراسایکلین، سفتازیدیم، کارباپنم (ایمی‌پنم و مروپنم)، تری‌متوپریم سولفامتوکسازول (کوتریموکسازول)، سفپیم، آمپی سیلین- سولباکتام، سیپروفلوکساسین (ساخت شرکت Rosco دانمارک) استفاده شد. از کشت ۲۴ ساعته‌ی باکتری کدورتی معادل McFarland ۰/۵ ($۱/۵ \times ۱۰^{۸}$) تهیه شد و در روی پلیت Muller-Hinton agar تلقیح شد. سپس دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی با رعایت تکنیک‌های آسپتیک در سطح پلیت قرار داده شدند. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ C^{o} قرار گرفت. پس از انکوباسیون ۲۴ ساعته، قطر هاله‌ی عدم رشد باکتری‌ها اندازه‌گیری و پس از مقایسه با جداول ارایه شده توسط CLSI، مقاومت یا حساسیت باکتری‌ها نسبت به هر آنتی‌بیوتیک تعیین شد (۲۳).

آزمون‌های آماری به وسیله‌ی نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۱ (version 21, SPSS Inc., Chicago, IL) انجام شد و با استفاده از آزمون $\chi^{۲}$ و ضریب Kappa تجزیه و تحلیل شد و $P < ۰/۰۵۰$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

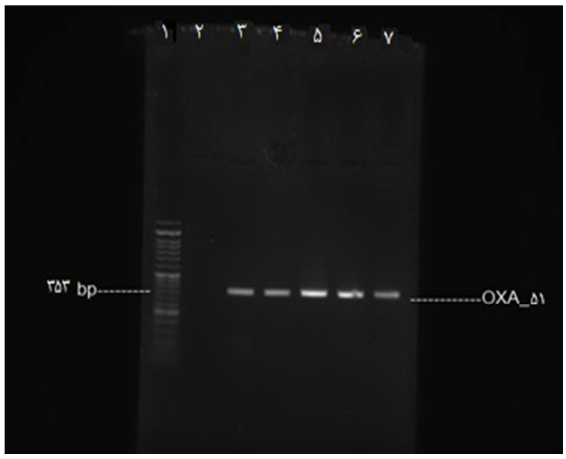
تعداد ۳۵۰ نمونه از قسمت‌های مختلف شامل کاتتر خون، ادرار، زخم، CSF (Cerebrospinal fluid)، خلط و چشم از بیماران در بخش ICU جمع‌آوری گردید.

شکل ۱ درصد توزیع جدایه‌های اسینتوباکتر بومانی در نمونه‌های بالینی در بخش مراقبت‌های ویژه‌ی بیمارستان را نشان می‌دهد که بیشترین نمونه‌ی جمع‌آوری شده، مربوط به کاتتر (۳۰/۲۷ درصد) بود. ۳۲/۶ درصد نمونه‌ها (۱۴ نمونه) از زنان و ۶۷/۴ درصد نمونه‌ها (۲۹ نمونه) از مردان جداسازی شد.



شکل ۱. درصد توزیع جدایه‌های اسینتوباکتر بومانی در نمونه‌های بالینی در بخش مراقبت‌های ویژه

در این مطالعه، ۴۳ ایزوله‌ی اسینتوباکتر بومانی به روش‌های فنوتیپی شناخته شدند. همه‌ی ایزوله‌ها با روش PCR تأیید شدند. شکل ۲ نتایج تکثیر ژن blaoxa۵۱ را نشان می‌دهد. همه‌ی ایزوله‌ها دارای ژن blaoxa۵۱ بودند.



شکل ۲. نتایج الکتروفورز تکثیر ژن blaoxa۵۱: چاهک نمونه‌ی ۱: size marker ۵۰ bp (SM۰۲-Fermentase, Germany)؛ چاهک نمونه‌ی ۲: شاهد منفی P.aeruginosa ATCC۲۷۸۵۳؛ چاهک نمونه‌ی ۳: شاهد مثبت A.baumannii ATCC۱۹۶۰۶؛ بقیه‌ی چاهک‌ها (۷-۴) نمونه‌های بالینی

الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی نشان داد که ۵۳/۵ درصد ایزوله‌ها به آمیکاسین، ۸۳/۷ درصد به تتراسایکلین، ۸۶/۰ درصد به سفتازیدیم، ۹۰/۷ درصد به تری‌متوپریم سولفامتوکسازول و ۹۳/۰ درصد به ایمی‌پنم، مروپنم، سفپیم و آمپی سیلین سولباکتام مقاومت داشتند و همچنین تمامی ایزوله‌ها نسبت به سیپروفلوکسازین مقاومت داشتند. یافته‌ها نشان داد که تمامی اسینتو باکترهای جدا شده از ICU بیمارستان‌های شهر اصفهان MDR بودند (جدول ۱).

بحث

اسینتوباکتر بومانی، باکتری فرصت طلب با قدرت بیماری‌زایی بالا و یکی از عوامل عفونت‌های بیمارستانی طی ۳۰ سال گذشته می‌باشد. درمان این باکتری به خصوص سویه‌های مقاوم به چند دارو و مولدین بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف آن، به علت مقاومت گسترده‌ی آن‌ها نسبت به داروهای ضد میکروبی، با مشکل مواجه است (۲۴، ۲).

جدول ۱. توزیع فراوانی الگوی مقاومت دارویی ایزوله‌های اسینتوباکتر بومانی

آنتی‌بیوتیک	مقاوم تعداد (درصد)	نیمه مقاوم تعداد (درصد)	حساس تعداد (درصد)
آمیکاسین	۲۳ (۵۳/۵)	۹ (۲۰/۹)	۱۱ (۲۰/۶)
تتراسایکلین	۳۶ (۸۳/۷)	۴ (۹/۳)	۳ (۷/۰)
سفتازیدیم	۳۷ (۸۶/۰)	۵ (۱۱/۷)	۱ (۲/۳)
تری‌متوپریم سولفامتوکسازول	۳۹ (۹۰/۷)	۰ (۰)	۴ (۹/۳)
سفپیم	۴۰ (۹۳/۰)	۲ (۴/۷)	۱ (۲/۳)
ایمی‌پنم	۴۰ (۹۳/۰)	۰ (۰)	۳ (۷/۰)
مروپنم	۴۰ (۹۳/۰)	۰ (۰)	۳ (۷/۰)
آمپی سیلین سولباکتام	۴۰ (۹۳/۰)	۰ (۰)	۳ (۷/۰)
سیپروفلوکساسین	۴۳ (۱۰۰)	۰ (۰)	۰ (۰)

مقاومت اسینتوباکتربومانی می تواند ذاتی یا ژنتیکی باشد. اکثر سویه‌های اسینتوباکتر بومانی به آمپی سیلین، آموکسی سیلین- کلاولانیک اسید، سفالوسپورین‌های وسیع‌الطیف (به جز سفتازیدیم و سفیپیم)، تتراسایکلین، ماکرولیدها، ریفامپین و کلرامفنیکل مقاوم می‌باشند. مقاومت به بتالاکتامازهای غیر کارباپنمی در این باکتری با تولید بیش از حد سفالوسپورینار همراه است (۲۴).

در مطالعه‌ی حاضر، درصد بالایی از اسینتوباکتر بومانی‌ها دارای مقاومت دارویی چندگانه بودند. همچنین مقاومت آنتی‌بیوتیکی مشاهده شده در پژوهش حاضر بسیار زیادتر از مقاومت آنتی‌بیوتیکی مشاهده شده در پژوهش‌های مشابه در سایر نقاط ایران بود (۲۷-۲۵). احتمال می‌رود تفاوت در یافته‌های مقاومت اسینتوباکتر بومانی، به علت تنوع در نمونه‌های بالینی، زمان انجام مطالعه و راهکارهای درمانی در هر منطقه‌ی جغرافیایی باشد. با مقایسه‌ی برهه‌ی زمانی انجام این پژوهش با سایر مطالعات قبلی و تفاوت در یافته‌های این پژوهش با آن‌ها، می‌توان به افزایش روز افزون مقاومت این سویه از باکتری نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های رایج برای درمان آن پی برد؛ به این معنی که میزان مقاومت اسینتوباکتر با گذشت زمان افزایش یافته است. همچنین بررسی‌های صورت گرفته در آسیا و خاورمیانه، حاکی از شیوع اسینتوباکتر بومانی با مقاومت دارویی MDR در این مناطق می‌باشد (۲۹-۲۸).

علاوه بر این، عوارض و مرگ و میر قابل توجه در ارتباط با این باکتری فرصت طلب وجود دارد؛ به طوری که در ایالات متحده‌ی آمریکا پنومونی اکتسابی از اسینتوباکتر بومانی در ICU به طور معمول در ۱۰-۵ درصد بیماران دریافت کننده‌ی تهویه‌ی مکانیکی مشاهده شده است (۲۴). بیشتر از ۳۵ درصد بیماران در ICU با عفونت دستگاه گردش خون توسط این باکتری فوت می‌کنند (۳۰). مرگ و میرهای ناشی از جراحی مغز و اعصاب و منتژیت‌های اسینتوباکتر بومانی در بیماران با شانت‌های مغزی، به بیش از ۷۰ درصد رسیده است (۳۱).

در بررسی انجام شده در عربستان سعودی، ایزوله‌های جمع‌آوری شده از نمونه‌های مختلف مانند نمونه‌ی تنفسی (۴۶۹)، خون (۴۰۰)، زخم/ بافت (۲۳۵)، ادرار (۵۶)، سواپ بینی (۳۵) و مایع CSF (۱۵) از بیماران در بخش ICU شامل ۴۰/۹ درصد اسینتوباکتر بومانی، ۱۹/۴درصد کلبسیلا پنومونیه و ۱۶/۳ درصد سودوموناس آئروژینوزا بودند (۳۲).

در یک مطالعه در تهران از ۱۰۰ نمونه‌ی جمع‌آوری شده در بخش مراقبت‌های ویژه‌ی مجتمع رسول اکرم (ص)، ۲۱ نمونه (۲۱ درصد) حاوی اسینتوباکتر بومانی بوده است (۲۶). در مطالعه‌ی Costa و همکاران در برزیل از ۱۶۰۲۴ بیمار بستری، ۳۹۷ بیمار (۲/۴ درصد) به پنومونی بیمارستانی دچار شدند که ۲۹ درصد از موارد عفونت‌های بیمارستانی به علت آلودگی با اسینتوباکتر بوده است (۳۳). در مطالعه‌ی Rit و Saha، از میان ۴۱۸۰ ایزوله‌ی کلینیکی، ۷۴/۰۲ درصد اسینتوباکتر بومانی و ۲۵/۹۸ درصد سایر گونه‌های اسینتوباکتر تشخیص داده شد (۳۴).

مطالعات مختلفی مانند Bassetti و همکاران (۳۵)، Leung و همکاران (۳۶) و نیز Michalopoulos و Falagas (۳۷) مؤید این مطلب می‌باشند که سویه‌های مختلف اسینتوباکتر بومانی

نسبت به اکثر آنتی‌بیوتیک‌های مصرفی مقاوم شده‌اند. در مطالعه‌ای که توسط Smolyakov و همکاران به منظور بررسی عفونت‌های ناشی از اسینتوباکتر بومانی با مقاومت دارویی چندگانه انجام گرفت، مشخص گردید که ۹۳ درصد سویه‌ها به ایمی‌پنم و ۱۰۰ درصد سویه‌ها به کلیستین و آمپی سیلین- سولباکتام حساس بودند (۳۸).

در مطالعه‌ای که توسط Wang و همکاران بر روی اپیدمی‌های ناشی از اسینتوباکتر بومانی مقاوم به دارو در بخش ICU انجام گرفت، مشخص گردید که تمام سویه‌ها به آزترونام، آمیکاسین، آمپی سیلین- سولباکتام، سفتازیدیم، سفپیم، سیپروفلوکساسین، جنتامایسین، ایمی‌پنم، مروپنم، پیپراسیلین- تازوباکتام و تیکارسیلین- کلاولانیک اسید مقاوم و به پلی میکسین B حساس بودند (۳۹).

در مطالعه‌ای که توسط Ayan و همکاران انجام گردید، از ۵۲ سویه‌ی مورد مطالعه، همه‌ی ایزوله‌ها به پیپراسیلین، پیپراسیلین- تازوباکتام، تیکارسیلین- کلاولانیک اسید، سفپیم، سفوتاکسیم، سفتازیدیم، سفتریاکسون، جنتامایسین و آزترونام مقاوم بودند و مقاومت به توبرامایسین، سیپروفلوکساسین، آمپی سیلین- سولباکتام، تری‌متوپریم سولفامتوکسازول و آمیکاسین به ترتیب در ۵ درصد، ۸ درصد، ۵۵ درصد، ۶۶ درصد و ۷۴ درصد سویه‌ها مشاهده گردید (۴۰). مطالعه‌ی صادقی‌فرد و همکاران نشان داد که تمام جدایه‌های اسینتوباکتر بومانی تا به حال مقاومت ۱۰۰ درصد به آزترونام، سفوتاکسیم، سفتازیدیم، سفتریاکسون، مروپنم و تیکارسیلین- کلاوولانات داشتند؛ در حالی که مقاومت به آمیکاسین ۵۰ درصد و توبرامایسین ۵۶ درصد بود (۴۱).

نتایج مطالعه‌ای دیگر نشان داد که سویه‌های بالینی اسینتوباکتر بومانی ۹۵/۶ درصد به پیپراسیلین، ۸۹/۱ درصد به سفتازیدیم، ۹۷/۸ درصد به سفتریاکسون، ۹۵/۶ درصد به سفپیم، ۸۰/۴ درصد به سیپروفلوکساسین، ۶۳/۰ درصد به مروپنم و ۵۴/۳ درصد به تتراسایکلین مقاومت داشتند که همخوانی به نسبت کاملی با یافته‌های ما در این تحقیق دارد (۴۲).

این مطالعات ومطالعات دیگر نشان می دهند که درمان خط مقدم برای عفونت‌های ناشی از اسینتوباکتر بومانی شامل آمیکاسین، کاربپنم (ایمی‌پنم، مروپنم) سفتازیدیم و کوئینولون‌ها می باشد (۴۳) و ایمی‌پنم به عنوان فعال‌ترین دارو در برابر عفونت های ناشی از اسینتوباکتر بومانی است. اما در مطالعات اخیر، مدارکی دال بر پراکندگی سویه‌های مقاوم به ایمی‌پنم گزارش شده است (۴۵-۴۴).

در این مطالعه، ۹۳ درصد ایزوله‌های اسینتوباکتر بومانی ایمی پنم و مروپنم، ۸۶ درصد به سفتازیدیم و ۱۰۰ درصد به سیپروفلوکسازین مقاومت داشتند. میزان مقاومت ایزوله‌های اسینتوباکتر نسبت به سیپروفلوکسازین دارای اهمیت است؛ زیرا در صورتی که ایزوله‌ی جدا شده از عفونت‌های بیمارستانی نسبت به سیپروفلوکسازین حساس باشد، کاربرد بالینی سیپروفلوکسازین نسبت به کاربپنم ها بهتر است. از طرفی، بسیاری از انواع اسینتوباکتر بومانی مقاوم به سیپروفلوکسازین، نسبت به آنتی بیوتیک‌های دیگر نیز مقاوم هستند. بنابراین، به منظور درمان این نوع عفونت‌ها، باید از آنتی‌بیوتیک‌های دیگری از قبیل داروی ترکیبی سولباکتام، کلیستین و یا تیگه سیکلین

استفاده نمود. از این رو، بررسی میزان مقاومت ایزوله‌های اسینتوباکتر حتی نسبت به سیپروفلوکسازین، اطلاعات کافی برای پزشکان در زمینه ی دستیابی به روش های مناسب برای درمان عفونت‌های ناشی از ایزوله‌های اسینتوباکتر را به همراه خواهد داشت (۴۶).

در پایان چنین نتیجه‌گیری می‌شود که بخش ICU به خاطر طول مدت بستری بیماران و شدت بیماری آن‌ها، جزء نواحی دارای خطر بالا برای عفونت‌های بیمارستانی می‌باشد. در تحقیقات قبل، بیشترین فراوانی عفونت بیمارستانی مربوط به بخش ICU با اسینتو باکتر بومانی بوده است. در این پژوهش، درصد بسیار بالایی از مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها در اسینتوباکتر بومانی در بخش ICU مشاهده شد. بنابراین لازم است راهکارهای مناسب برای کنترل و گسترش این سویه‌ها در بیمارستان‌ها و مراکز درمانی انجام گیرد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از تمامی کارشناسان بیمارستان‌ها که در نمونه‌گیری کمک نموده‌اند سپاسگزاری می‌گردد.

References

1. Perez F, Hujer AM, Hujer KM, Decker BK, Rather PN, Bonomo RA. Global challenge of multidrug-resistant Acinetobacter baumannii. Antimicrob Agents Chemother 2007; 51(10): 3471-84.
2. Peleg AY, Seifert H, Paterson DL. Acinetobacter baumannii: emergence of a successful pathogen. Clin Microbiol Rev 2008; 21(3): 538-82.
3. Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Yolken RH, editors. Manual of clinical microbiology. 7th ed. Washington, DC: ASM Press; 1999. p. 517-25.
4. Barbolla RE, Centron D, Maimone S, Rospide F, Salgueira C, Altclas J, et al. Molecular epidemiology of Acinetobacter baumannii spread in an adult intensive care unit under an endemic setting. Am J Infect Control 2008; 36(6): 444-52.
5. Mastoraki A, Douka E, Kriaras I, Stravopodis G, Saroglou G, Geroulanos S. Preventing strategy of multidrug-resistant Acinetobacter baumanii susceptible only to colistin in cardiac surgical intensive care units. Eur J Cardiothorac Surg 2008; 33(6): 1086-90.
6. Bou G, Oliver A, Martinez-Beltran J. OXA-24, a novel class D beta-lactamase with carbapenemase activity in an Acinetobacter baumannii clinical strain. Antimicrob Agents Chemother 2000; 44(6): 1556-61.
7. Sinha M, Srinivasa H, Macaden R. Antibiotic resistance profile & extended spectrum beta-lactamase (ESBL) production in Acinetobacter species. Indian J Med Res 2007; 126(1): 63-7.
8. Dijkshoorn L, Van VW, Degener JE, Michel MF. Typing of Acinetobacter calcoaceticus strains isolated from hospital patients by cell envelope protein profiles. Epidemiol Infect 1987; 99(3): 659-67.
9. Joly-Guillou ML. Clinical impact and pathogenicity of Acinetobacter. Clin Microbiol Infect 2005; 11(11): 868-73.
10. Jawad A, Seifert H, Snelling AM, Heritage J, Hawkey PM. Survival of Acinetobacter baumannii on dry surfaces: comparison of outbreak and sporadic isolates. J Clin Microbiol 1998; 36(7): 1938-41.
11. Martinez MA, Pinto ME, Giglio MS, Pommier J, Munoz LM. Identification and sensitivity of acinetobacter sp isolated from clinical specimens and hospital environment. Rev Med Chil 1992; 120(11): 1267-72. [In Spanish].
12. Trilla A. Epidemiology of nosocomial infections in adult intensive care units. Intensive Care Med 1994; 20 Suppl 3: S1-S4.
13. Diomedi A. Acinetobacter baumannii pandrug-resistant: update in epidemiological and antimicrobial managing issues. Rev Chilena Infectol 2005; 22(4): 298-320. [In Spanish].
14. Dijkshoorn L, Nemec A, Seifert H. An increasing threat in hospitals: multidrug-resistant Acinetobacter baumannii. Nat Rev Microbiol 2007; 5(12): 939-51.

15. Navon-Venezia S, Ben-Ami R, Carmeli Y. Update on Pseudomonas aeruginosa and Acinetobacter baumannii infections in the healthcare setting. Curr Opin Infect Dis 2005; 18(4): 306-13.
16. Hsueh PR, Teng LJ, Chen CY, Chen WH, Yu CJ, Ho SW, et al. Pandrug-resistant Acinetobacter baumannii causing nosocomial infections in a university hospital, Taiwan. Emerg Infect Dis 2002; 8(8): 827-32.
17. Coelho J, Woodford N, Turton J, Livermore DM. Multiresistant acinetobacter in the UK: how big a threat? J Hosp Infect 2004; 58(3): 167-9.
18. Zarrilli R, Crispino M, Bagattini M, Barretta E, Di PA, Triassi M, et al. Molecular epidemiology of sequential outbreaks of Acinetobacter baumannii in an intensive care unit shows the emergence of carbapenem resistance. J Clin Microbiol 2004; 42(3): 946-53.
19. Lee K, Lee WG, Uh Y, Ha GY, Cho J, Chong Y. VIM- and IMP-type metallo-beta-lactamase-producing Pseudomonas spp. and Acinetobacter spp. in Korean hospitals. Emerg Infect Dis 2003; 9(7): 868-71.
20. Lee K, Yum JH, Yong D, Lee HM, Kim HD, Docquier JD, et al. Novel acquired metallo-beta-lactamase gene, bla(SIM-1), in a class 1 integron from Acinetobacter baumannii clinical isolates from Korea. Antimicrob Agents Chemother 2005; 49(11): 4485-91.
21. Bou G, Cervero G, Dominguez MA, Quereda C, Martinez-Beltran J. Characterization of a nosocomial outbreak caused by a multiresistant Acinetobacter baumannii strain with a carbapenem-hydrolyzing enzyme: high-level carbapenem resistance in A. baumannii is not due solely to the presence of beta-lactamases. J Clin Microbiol 2000; 38(9): 3299-305.
22. Brown S, Young HK, Amyes SG. Characterisation of OXA-51, a novel class D carbapenemase found in genetically unrelated clinical strains of Acinetobacter baumannii from Argentina. Clin Microbiol Infect 2005; 11(1): 15-23.
23. Clinical Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: twentieth informational supplement: M100-S20. Wayne PA: CLSI; 2012.
24. Gaynes R, Edwards JR. Overview of nosocomial infections caused by gram-negative bacilli. Clin Infect Dis 2005; 41(6): 848-54.
25. Rastegar Lari AR, Alaghehbandan R, Akhlaghi L. Burn wound infections and antimicrobial resistance in tehran, iran: an increasing problem. Ann Burns Fire Disasters 2005; 18(2): 68-73.
26. Saadatian Farivar A, Nowroozi J, Emami M. The prevalence of acinetobacter in sergical ICU in Rasoul Akram Hospital in 2004-2005. J Rafsanjan Univ Med Sci 2005; 4(4): 342-7. [In Persian].
27. Hosseini Jazani N, Babazadeh H, Khalkhali H. Evaluation of the sensitivity of Acinetobacter sp. burn isolates to ciprofloxacin and some of other used antibiotics for treatment. J Jahrom Univ Med Sci 2009; 7(2): 48-58. [In Persian].
28. Koh TH, Sng LH, Wang GC, Hsu LY, Zhao Y. IMP-4 and OXA beta-lactamases in Acinetobacter baumannii from Singapore. J Antimicrob Chemother 2007; 59(4): 627-32.
29. Paul M, Weinberger M, Siegman-Igra Y, Lazarovitch T, Ostfeld I, Boldur I, et al. Acinetobacter baumannii: emergence and spread in Israeli hospitals 1997-2002. J Hosp Infect 2005; 60(3): 256-60.
30. Wisplinghoff H, Bischoff T, Tallent SM, Seifert H, Wenzel RP, Edmond MB. Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study. Clin Infect Dis 2004; 39(3): 309-17.
31. Johnson EN, Burns TC, Hayda RA, Hospenthal DR, Murray CK. Infectious complications of open type III tibial fractures among combat casualties. Clin Infect Dis 2007; 45(4): 409-15.
32. Saeed NK, Kambal AM, El-Khizzi NA. Antimicrobial-resistant bacteria in a general intensive care unit in Saudi Arabia. Saudi Med J 2010; 31(12): 1341-9.
33. Costa SF, Newbaer M, Santos CR, Basso M, Soares I, Levin AS. Nosocomial pneumonia: importance of recognition of aetiological agents to define an appropriate initial empirical therapy. Int J Antimicrob Agents 2001; 17(2): 147-50.
34. Rit K, Saha R. Multidrug-resistant acinetobacter infection and their susceptibility patterns in a tertiary care hospital. Niger Med J 2012; 53(3): 126-8.
35. Bassetti M, Righi E, Esposito S, Petrosillo N, Nicolini L. Drug treatment for multidrug-resistant Acinetobacter baumannii infections. Future Microbiol 2008; 3(6): 649-60.
36. Leung WS, Chu CM, Tsang KY, Lo FH, Lo KF, Ho PL. Fulminant community-acquired Acinetobacter baumannii pneumonia as a distinct clinical syndrome. Chest 2006; 129(1): 102-9.
37. Michalopoulos A, Falagas ME. Treatment of Acinetobacter infections. Expert Opin Pharmacother 2010; 11(5): 779-88.
38. Smolyakov R, Borer A, Riesenberg K, Schlaeffer F, Alkan M, Porath A, et al.

Nosocomial multi-drug resistant Acinetobacter baumannii bloodstream infection: risk factors and outcome with ampicillin-sulbactam treatment. J Hosp Infect 2003; 54(1): 32-8.

39. Wang SH, Sheng WH, Chang YY, Wang LH, Lin HC, Chen ML, et al. Healthcare-associated outbreak due to pan-drug resistant Acinetobacter baumannii in a surgical intensive care unit. J Hosp Infect 2003; 53(2): 97-102.

40. Ayan M, Durmaz R, Aktas E, Durmaz B. Bacteriological, clinical and epidemiological characteristics of hospital-acquired Acinetobacter baumannii infection in a teaching hospital. J Hosp Infect 2003; 54(1): 39-45.

41. Sadeghifard N, Ranjbar R, Zaeimi J, YousefAlikhani M, Ghafouryan S, Raftari M, et al. Antimicrobial susceptibility, plasmid profiles, and RAPD-PCR typing of Acinetobacter bacteria. Asian Biomedicine 2010; 4(6): 901-11.

42. Prakasam G, Geethapriya S, Jayakeerthana KH, Ramesh S. Detection of certain virulence attributes and antimicrobial resistance pattern among clinical isolates of Acinetobacter baumannii. Int J Pharma Bio Sci 2011; 2(3): 501-7.

43. Prashanth K, Badrinath S. In vitro susceptibility pattern of Acinetobacter species to commonly used cephalosporins, quinolones, and aminoglycosides. Indian J Med Microbiol 2004; 22(2): 97-103.

44. Jamulitrat S, Thongpiyapoom S, Suwalak N. An outbreak of imipenem-resistant Acinetobacter baumannii at Songklanagarind Hospital: the risk factors and patient prognosis. J Med Assoc Thai 2007; 90(10): 2181-91.

45. Amor A, Barguellil F, Othmani S, Bahri M. Acinetobacter baumannii infections. Contribution of bacteriologic studies**.** Semaine des Hôpitaux de Paris 1993; 69(2): 732-5. [In French].

46. Lagamayo EN. Antimicrobial resistance in major pathogens of hospital-acquired pneumonia in Asian countries. Am J Infect Control 2008; 36(4 Suppl): S101-S108.

Journal of Isfahan Medical School
Received: 25.05.2014
Vol. 32, No. 295, 4th Week, September 2014
Accepted: 23.08.2014

Frequency of Multi-Drug Resistance Acinetobacter Baumannii Isolates in Intensive Care Units (ICU) of Isfahan Hospitals, Iran, via Molecular Method and Their Antimicrobial Resistance Patterns

Hasan Ghajavand[1], Asghar Havaei PhD[2], Bahram Nasr-Esfahani PhD[2], Hossein Fazeli PhD[2], Sharareh Moghim PhD[2]

Original Article

Abstract

Background: Acinetobacter baumannii is one of the most important pathogen in hospital acquired infections, especially in intensive care units (ICUs). This opportunistic pathogen can be easily isolated from water, soil, and hospital facilities. Acinetobacter baumannii, as a nosocomial opportunistic pathogen, is resistant to wide range of antibiotics. The aim of this study was to determine the frequency and resistance patterns of Acinetobacter baumannii isolated from intensive care units of Isfahan Hospitals, Iran.

Methods: During one year period (2012-2013), 350 specimens were collected from intensive care units of Isfahan hospitals. The specimens were characterized as Acinetobacter baumannii via conventional phenotypic and biochemical tests. The isolates were confirmed using polymerase chain reaction (PCR) for OXA_51-like gene. Susceptibility of isolates was determined via standard disk diffusion method according to CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute).

Findings: From 350 specimens, 43 isolates was Acinetobacter baumannii. 53.5% of isolates were resistant to amikacin, 83.7% to tetracyclin, 86.0% to ceftazidime, 90.7% to trimetoprim sulfametoxazol, 93.0% to imipenem, cefepime, meropenem, and ampicillin-sulbactam. All isolates were resistant to ciprofloxacin. Our findings showed that all of Acinetobacter baumannii, isolated from the intensive care units of Isfahan hospitals were multi-drug resistance (MDR).

Conclusion: This study showed a high resistant of Acinetobacter baumannii to a wide range of antimicrobial agent. It is necessary to adopt appropriate strategies to control the spread of the bacteria in care unit centers and wards.

Keywords: Acinetobacter baumannii, Polymerase chain reaction (PCR), Antibiotic resistance, Intensive care units (ICU)

Citation: Ghajavand H, Havaei A, Nasr Esfahani B, Fazeli H, Moghim Sh. **Frequency of Multi Drug Resistance Acinetobacter Baumannii Isolates in Intensive Care Units (ICU) of Isfahan Hospitals, Iran, via Molecular Method and Their Antimicrobial Resistance Patterns.** J Isfahan Med Sch 2014; 32(295): 1175-85

* This paper is derived from a MSc thesis No. 392203 in Isfahan University of Medical Sciences.

1- MSc Student, Department of Microbiology, School of Medicine AND Student Research Committee, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
2- Associate Professor, Department of Microbiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
Corresponding Author: Sharareh Moghim PhD, Email: moghim@med.mui.ac.ir

مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و دوم/شماره ۲۹۵/هفته چهارم شهریور ماه ۱۳۹۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱/۲۶
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۶/۷

بررسی فراوانی نسبی پذیرش و سرانجام سالمندان بستری شده در اورژانس مرکز آموزشی و درمانی الزهرا (س)

دکتر پرویز کاشفی[۱]، حسین دارابی[۲]، علی مهرابی کوشکی[۳]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: افزایش روز افزون طول عمر انسان که پیامد فرایند توسعه و پیشرفت دانش پزشکی و فن‌آوری شگفت‌انگیز جهان امروز است، باعث توجه و نگرش ویژه‌ی جوامع بشری به افراد سالمند، یعنی انسان‌های ارجمند و تلاشگری شده است که سهم سزاواری در این توسعه و تعالی داشته‌اند. در نتیجه، مسایل پزشکی مربوط به آنان نیز در این راستا نقشی بسیار مهم ایفا کرده و اهمیت فراوانی احراز نموده است. بدیهی است امر تشخیص، درمان، توانبخشی و بسیاری از موارد وابسته به دوران سالمندی، مشکلات و مسایل مربوط به خود را دارد و دقت و مراقبت ویژه‌ای را طلب می‌کند. شناخت شایع‌ترین بیماری‌های منجر به بستری سالمندان جهت برنامه‌ریزی‌های آینده‌ی آموزشی و درمانی بسیار مفید خواهد بود. این مطالعه با هدف ارزیابی علل بستری سالمندان و نیز سرانجام آن‌ها در یکی از بزرگ‌ترین بیمارستان‌های استان اصفهان انجام شد.

روش‌ها: این مطالعه یک مطالعه‌ی مقطعی بود که در سال ۱۳۹۰ در بیمارستان الزهرا (س) اصفهان به انجام رسید. جامعه‌ی آماری مورد مطالعه، افراد سالمند بالای ۶۵ سال مراجعه کننده به این مرکز در سال ۱۳۹۰ بودند. ابتدا یک چک لیست بر اساس اطلاعات مورد نیاز تهیه گردید و سپس اطلاعات لازم از پرونده‌ی بیماران استخراج و درآن ثبت شد. نتایج به دست آمده پس از ورود به رایانه، با استفاده از نرم‌افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها: شایع‌ترین شکایت افراد مراجعه کننده، اختلالات گوارشی و در مرحله‌ی بعد، تنگی نفس بود. در حالی که مواردی مثل برق گرفتگی، گلودرد، شوک آنافیلاکسی و هموپتزی در این گروه سنی مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: با توجه به شیوع بالای بیماران مسن مراجعه کننده به مراکز درمانی و افزایش جمعیت مسن در طی سال‌های آینده و نیز تمایل بار بیماری‌ها به سمت بیماری‌های دوران سالمندی، بایستی تمهیدات لازم جهت پاسخگویی به نیاز اقشار سالمند اندیشیده شود.

واژگان کلیدی: سالمند، بیماری‌های دوران سالمندی، بیمارستان

ارجاع: کاشفی پرویز، دارابی حسین، مهرابی کوشکی علی. **بررسی فراوانی نسبی پذیرش و سرانجام سالمندان بستری شده در اورژانس مرکز آموزشی و درمانی الزهرا (س).** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۲۹۵): ۱۱۹۶-۱۱۸۶

مقدمه

طبق آمار، افراد امروزه طولانی‌تر از هر زمان دیگری زندگی می‌کنند. در حال حاضر، سن امید به زندگی در ایالات متحده‌ی آمریکا ۶۷/۷ سال است. این رقم در صورتی مفهوم واقعی خود را نشان می‌دهد که بدانید کودکی که در سال ۱۹۰۰ به دنیا می‌آمد، به

* این مقاله حاصل پایان‌نامه‌ی دوره‌ی دکترای حرفه‌ای در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان است.

۱- دانشیار، گروه بیهوشی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

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

۳- اپیدمیولوژیست، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: حسین دارابی

Email: hossein_darabi83@yahoo.com

طور میانگین تنها ۷/۳۴ سال می‌توانست زندگی کند؛ اما تا سال ۱۹۵۰، سن امید به زندگی افزایش یافته بود. این عمر طولانی‌تر، بدون شک نتیجه‌ی پیشرفت‌های دارویی و درمانی است. امروزه پزشکان قادرند با بیماری‌هایی که پیش از این مرگبار به شمار می‌آمدند، مبارزه کنند و با شیوه‌های گوناگونی از جمله واکسیناسیون و تشخیص زود هنگام بیماری تا درمان‌های طولانی مدت سلامت مردم را حفظ کنند. در روزگار ما به نسبت گذشته تعداد کمتری از مردم از بیماری‌های قلبی و سرطان جان می‌سپارند. اما آیا این آمارها به این معنی هستند که امروزه مردم سالم‌تر از پیش زندگی می‌کنند؟ (۱).

بر اساس آمار انجمن ملی تغذیه، در هر روز نیمی از جمعیت امریکا در رژیم غذایی به سر می‌برند. فراورده‌های ضد پیری به صنایع چند میلیون دلاری تبدیل شده‌اند. تعداد افرادی که در مورد بدن خود و شرایط آن آگاه هستند، روز به روز بیشتر می‌شود. Peter Moore سردبیر مجله‌ی سلامت معتقد است با گذشت هر دهه از عمر، باید با دقت ارقام مربوط به شرایط بدن از جمله فشار خون، میزان کلسترول و ... را چک کرد و تحت نظر داشت؛ چرا که با تغییر و افزایش سن، تغییرات آشکاری در بدن ایجاد می‌شود و چنان که واضح است، بدن یک فرد ۳۰ ساله، تفاوت فاحشی با بدن یک فرد ۶۰ ساله دارد. به عنوان نمونه، افرادی با سن بالا برای دیدن نیاز به نور بیشتری دارند که دلیل آن، این است که در سن ۶۰ سالگی اندازه‌ی عدسی چشم به حدود یک سوم اندازه‌ی آن در سن ۲۰ سالگی می‌رسد. میزان دید، تنها نمونه‌ای از این تغییرات عمده است (۴-۱).

امروزه نرخ مرگ و میر در اغلب کشورها کاهش یافته است؛ در نتیجه، افراد عمر طولانی‌تری دارند و امید به زندگی در بدو تولد افزایش یافته است. امروزه در اغلب کشورها یک فرد ۶۰ ساله می‌تواند انتظار داشته باشد که ۲۰-۱۵ سال دیگر عمر کند. در گذشته، افراد بالای ۱۰۰ سال به ندرت در همه‌ی کشورها زندگی می‌کردند، اما امروزه بسیاری از آنان در کشورهای در حال توسعه هم زندگی می‌کنند.

کاهش تعداد تولدها، الگوی رایج یک تا دو فرزند در بین طبقات متوسط و بالای جمعیت شده است. در حال حاضر در اغلب کشورهای منطقه‌ی مدیترانه، افراد ۶۰ سال و بالاتر، ۵-۴ درصد کل جمعیت را تشکیل می‌دهند (قبرس ۱۴ درصد). جمعیت ۱۳ میلیونی این افراد هر ساله در حال افزایش است؛ به طوری که ظرف ۱۰ سال آینده، جمعیت سالمندان ۱۰-۸ درصد کل جمعیت را تشکیل خواهد داد. در کشورهای اروپای غربی (آلمان، فرانسه، انگلیس و سوئد) این جمعیت ۲۵-۱۲ درصد کل جمعیت را تشکیل می‌دهد که تا سال ۲۰۲۰ به ۲۵ درصد می‌رسد (۵).

پدیده‌ی سالمندی چندین دهه است که در جوامع غربی مشهود است، و دولت و مردم برای مواجهه با آن آماده‌اند؛ اما برای کشورهای منطقه‌ی مدیترانه‌ی شرقی، پدیده‌ای نوین است و اغلب از پیچیدگی‌های اجتماعی، اقتصادی و بهداشتی آگاهی وجود ندارد. بنابراین باید قبل از این که این پدیده به حالت بحرانی برسد، برنامه‌ریزی صورت بگیرد؛ ضمن این که چگونگی پیر شدن تابع چگونگی دوران‌های پیشین است.

شاخص‌های آماری نشان می‌دهد که پیر شدن جمعیت در کشور ما آغاز شده است و پیش‌بینی می‌شود که در فاصله‌ی سال‌های ۹۵-۱۳۷۵ به میانه‌ی سنی جمعیت کشور، ۱۰ سال افزوده شود. سرشماری

سال ۱۳۷۵ نشان داد که ۶/۶ درصد از جمعیت کشورمان افراد ۶۰ سال و بالاتر هستند (یعنی حدود ۳/۷ میلیون نفر). بر اساس سرشماری DHS (Department of Homeland security)، این رقم به ۷/۸ درصد رسیده است و پیش‌بینی می‌شود که ظرف ۲۰ سال آینده به بیش از ۲ برابر (حدود ۸/۵ میلیون نفر) افزایش یابد و در واقع، شدت سالخوردگی در کشور از سال ۱۴۱۰ به بعد خودنمایی می‌کند.

هم اکنون سن بیش از ۵۰ درصد از جمعیت کشور ما زیر ۲۰ سال است و سالمندان بالای ۶۰ سال حدود ۷/۸ درصد از کل جمعیت را تشکیل می‌دهند. این ارقام نشان دهنده‌ی این است که کشور ما کشور جوانی است و برآوردن نیازها و تأمین آتیه‌ی مناسب برای جمعیت جوان آن مستلزم برنامه‌ریزی‌ها و سیاست‌گذاری‌های ویژه می‌باشد. از طرف دیگر، اگر چه عدد ۷/۸ درصد عدد کوچکی به نظر می‌رسد، اما در مدت زمان کوتاهی این رقم به قدری بزرگ خواهد شد که ناگهان با جمعیت بزرگی از سالمندان مواجه می‌شویم. بنابراین جامعه‌ی ما فقط با مشکلات مربوط به جوانان دست به گریبان نیست و ما هم برای رسیدگی به مسایل جوانان باید برنامه‌ریزی کنیم و هم باید برای جمعیت سالمندی که به زودی با آن روبه‌رو خواهیم شد، آمادگی لازم را داشته باشیم (۴).

به علل بهداشتی، فرهنگی و اقتصادی، جمعیت‌های جهان به سمت پیر شدن پیش می‌روند و کشور ما نیز به واسطه‌ی اقدامات بهداشتی و افزایش امید به زندگی و کنترل جمعیت با این پدیده مواجه گردیده است؛ به طوری که در دهه‌های آینده، ترکیب جمعیت ایران به گونه‌ای خواهد بود که درصد قابل توجهی از جمعیت را افراد سالمند تشکیل خواهند داد و این پدیده به منزله‌ی این است که در آینده بار بیماری‌ها درکشور ما به سمت بیماری‌های مزمن و بیماری‌های دوران کهنسالی پیش خواهد رفت. از این رو، لازم است با درک این واقعیت و برنامه‌ریزی‌های لازم، امکانات و تجهیزات و محیط پزشکی لازم جهت پاسخگویی به این نیاز فراهم گردد. به عبارت دیگر، تخصص‌ها و امکاناتی که اکنون در مراکز درمانی وجود دارند، ممکن است نیاز فعلی جامعه را تأمین کنند، اما در آینده‌ای نزدیک با افزایش درصد جمعیت سالمند، بار کاری مراکز درمانی در خصوص بیماری‌های دوران کهنسالی سنگین‌تر می‌شود و امکانات فعلی پاسخگوی نیاز آتی نخواهد بود.

یکی از اولین گام‌هایی که باید در این راستا برداشته شود، این است که یک ارزیابی اولیه از بار مراجعه‌ی جمعیت سالمند به مراکز درمانی انجام گیرد و با تجزیه و تحلیل مشکلات آنان، نوع نیازها تعیین و با امکانات فعلی مقایسه گردد تا مشخص شود در زمان کنونی سیستم بهداشتی- درمانی چقدر پاسخگوی نیاز سالمندان است. مطالعه‌ی حاضر نیز با هدف این ارزیابی طراحی و اجرا شد.

اهمیت عرضه‌ی خدمات پزشکی به سالمندان از یک سو و پیشرفت دانش پزشکی و فن‌آوری نوین از سوی دیگر، حصول دقت، ظرافت، حوصله‌ی دلسوزانه و تدابیر عالمانه را در تشخیص بیماری‌ها، درمان و توانبخشی سالمندان ایجاب و تحقق این هدف والای انسانی را امکان پذیر می‌کند (۴).

البته مسایل دوران سالمندی، با توجه به حضور بیماری‌های جسمی مختلفی مثل، فشار خون، بیماری‌های کروز قلب، نارسایی قلب، گردش خون، دیابت، سرطان‌ها، عدم کنترل ادرار، نارسایی‌های

دستگاه تنفسی، تغییرات رو به قهقرایی ستون فقرات و مفاصل و نظایر این‌ها، ناراحتی‌ها، حساسیت‌ها و استرس‌های روحی، تأثیرات محیط زیست و سایر عوامل زندگی از اهمیت خاص برخوردار است و مستلزم کمال توجه، مراقبت و دقت می‌باشد (۵).

بدیهی است که این بیماری‌ها تنها به افراد سالمند اختصاص ندارند و تمام دوران زندگی انسان می‌توانند بروز کنند؛ اما شدت و کمیت آن در دوران سالمندی بیشتر می‌شود و درمان‌های مستمری را طلب می‌کند (۶). به همین دلیل، مطالعه‌ی فرسودگی اندام‌ها در طب دوران سالمندی، بیش از هر زمان دیگری ضروری به نظر می‌رسد؛ چرا که امکان بهره‌برداری از دانش پزشکی نوین و تکنولوژی پیشرفته در درمان بیماران سالمند، بهتر، مطلوب‌تر و سریع‌تر شده اشت و در تأمین سلامت و بهبود حال آنان تأثیر فراوانی خواهد داشت (۷). برای نیل به این هدف شایسته، دسترسی به منابع علمی روز و تجربیات و پژوهش‌های روزانه‌ی دانش پزشکی و مطالعه‌ی دقیق آنان بسیار لازم است (۸).

متأسفانه در دنیای امروز، با همه‌ی پیشرفت‌های علمی و امکانات فنی پزشکی برای درمان و توانبخشی سالمندان، در مقایسه با سایر رشته‌ها، اقدامات علمی، پژوهشی و عملی فراتر از اقدامات معمول در سال‌های اخیر، انجام نگرفته است (۹). در نتیجه، آن چنان که انتظار می‌رود، برای تخفیف آلام و رنج‌های مداوم افراد سالمند که مولود عدم توانایی‌های جسمی و ناراحتی‌های روانی آنان است، اقدامات چشمگیری به عمل نیامده است و این مسأله، گروه عظیمی از این افراد عزیز را از مواهب و امکانات زندگی اجتماعی محروم کرده است که در نهایت، به گوشه‌گیری، انزوا و ملالت خاطر آنان منجر شده است (۱۰).

بر طبق آمار سازمان ملل متحد در سال ۲۰۰۰، حدود ۵۹۰ میلیون سالمند وجود داشته است که این تعداد تا سال ۲۰۲۵ از مرز یک میلیارد و صد میلیون نفر تجاوز خواهد کرد (۱۱). در حال حاضر، ۲۵ درصد جوامع پیشرفته را سالمندان تشکیل می‌دهند (۱۲) و در کشور ایران، ۴ درصد جمعیت (بیش از ۲/۵ میلیون نفر) بالای ۶۵ سال سن دارند که از نظر قدر مطلق با تعداد سالمندان بسیاری از کشورهای پیشرفته برابر است. شناخت شایع‌ترین بیماری‌های منجر به بستری سالمندان جهت برنامه‌ریزی‌های آینده‌ی آموزشی و درمانی بسیار مفید خواهد بود (۱۲). مطالعات مختلفی درباره‌ی علل بستری سالمندان در بیمارستان و ارزیابی پیش‌آگهی آن‌ها صورت گرفته است.

در مطالعه‌ای با این پیش فرض که افراد سالمند مستعد ابتلا به عفونت هستند، شیوع عفونت سیستم های مختلف بدن در سالمندان تعیین شد. در این مطالعه پرونده‌ی بیماران بالای ۶۵ سال بستری در بخش‌های عفونی بیمارستان‌های دانشگاه شهید بهشتی از مهر ۱۳۸۰ لغایت شهریور ۱۳۸۱ مورد بررسی قرار گرفت. از ۱۰۰۳ پرونده‌ی بررسی شده، ۹۷۵ بیماری تشخیص داده شد؛ که از این تعداد، ۴۹۹ نفر مرد و ۴۷۶ نفر زن بودند. عفونت سیستم تنفسی، سیستم ادراری و سیستم گوارشی شایع‌ترین عفونت‌ها بودند. ترتیب فراوانی انواع عفونت برای هر دو جنس یکسان بود. در زمان بستری ۳۹/۷ درصد بیماران تب نداشتند و کاهش سطح هوشیاری در ۱۹/۷ درصد بیماران و Sepsis و Sepsis syndrom در ۴۲/۲ درصد بیماران

دیده شد (۱۲).

بر اساس یک مطالعه‌ی توصیفی، پرونده‌ی کلیه‌ی افراد بالای ۶۵ سال بستری در همه‌ی بیمارستان‌های آموزشی شهر رشت مورد بررسی قرار گرفت و متغیرها شامل سن، جنس، شکایت اصلی هنگام مراجعه، تشخیص نهایی و تعداد موارد فوت استخراج گردید. سپس از آمار توصیفی برای نشان دادن نتایج استفاده شد. در این مطالعه، ۷۴۹۹ نفر از افراد بستری در بیمارستان‌های آموزشی شهر رشت، سالمند بودند (۱۲/۷ درصد کل افراد بستری) که از این تعداد، ۳۹۴۴ نفر را مردان (۵۲/۶ درصد) و ۳۵۵۵ نفر را زنان (۴۷/۴ درصد) تشکیل می‌دادند. ۷۰/۳ درصد سالمندان در سنین ۷۴-۶۵ سالگی و بقیه بالای ۷۵ سال بودند. شایع‌ترین شکایات اصلی هنگام مراجعه به ترتیب درد قفسه سینه (۱۳/۹ درصد)، تنگی نفس (۱۱/۲ درصد)، درد شکم (۱۰/۴ درصد) بودند. مهم‌ترین علل بستری سالمندان نیز به ترتیب بیماری‌های قلبی و عروقی (۳۷/۰ درصد)، تروما و معلولیت‌های ارتوپدیک (۱۰/۸ درصد)، بیماری‌های تنفسی (۷/۴ درصد)، مشکلات بینایی (۵/۲ درصد)، سرطان‌ها (۴/۶ درصد) و بیماری‌های عروقی مغز (۴/۰ درصد) بودند. از کل سالمندان بستری، ۹۴۱ نفر (۱۲/۵ درصد) فوت نمودند که این تعداد ۵۶/۱ درصد کل مرگ و میر بیمارستان‌ها در سال بود. این مطالعه نشان می‌دهد که بیماری‌های غیر واگیر، مهم‌ترین علل بستری سالمندان می‌باشند که اکثر آن‌ها نیز در اثر عوامل خطر قابل تعدیل در سنین جوانی ایجاد می‌شوند. بنابراین لزوم آموزش همگانی به افراد جوان و میانسال، همچنین گسترش مراکز درمانی و بخش‌های ویژه‌ی سالمندان آشکار می‌شود (۱۳).

در یک مطالعه‌ی توصیفی، با مراجعه به پرونده‌ی بیمارانی که بیشتر از ۶۵ سال سن داشتند و در بخش عفونی بیمارستان بوعلی وابسته به دانشگاه علوم پزشکی قزوین بستری شده بودند، مهم‌ترین یافته‌های بالینی و پاراکلنیک این بیماران مورد بررسی قرار گرفتند. در طی مدت مطالعه، در مجموع ۲۴۰ نفر بستری شده بودند؛ ۴۸/۳۰ درصد از آنان زن و ۵۱/۷۰ درصد مرد بودند. حداکثر زمان بستری در ۵۹/۶۰ درصد بیماران یک هفته و تعداد دفعات بستری در ۵۵/۲۰ درصد موارد ۳-۲ در سال بوده است. بیشترین شکایت بیماران ضعف و بی‌حالی (۱۵/۶۰ درصد)، علایم گوارشی (۱۲/۸۰ درصد)، علایم ریوی (۱۲/۴۰ درصد)، علایم ادراری (۹/۹۰ درصد) و در ۳۱/۲۰ درصد موارد، علاوه بر علایم عمومی، یافته‌های لوکالیزه نیز وجود داشت. ۷۳/۵۰ درصد بیماران دارای بیماری زمینه‌ای بودند. در تشخیص نهایی، علت بستری در ۲۰ درصد موارد پنومونی، ۱۹/۵۰ درصد گاستروآنتریت و عفونت ادراری، ۱۳/۳۰ درصد سپتی‌سمی، ۴/۱۷ درصد بروسلوز، ۲/۵۰ درصد سل، ۲/۰۸ درصد منتژیت و ۱۸/۷۵ درصد موارد سایر موارد عفونی و نیز علل غیر عفونی بودند. نرخ مرگ و میر در بیماران ۰/۰۴ درصد بود. علت فوت در ۶ مورد سپتی‌سمی، ۱ مورد انفارکتوس میوکارد در فرد مبتلا به عفونت ادراری، ۱ مورد مسمومیت با تریاک و ۱ مورد پنومونی در زمینه‌ی سل قدیمی بود (۱۴).

روش‌ها

این مطالعه یک مطالعه‌ی توصیفی- تحلیلی بود که به منظور بررسی علل بستری سالمندان در سال ۱۳۹۰

در بیمارستان الزهرا (س) اصفهان به اجرا در آمد. جامعه‌ی آماری مورد مطالعه، شامل بیماران با سن بالای ۶۵ سال مراجعه کننده به این بیمارستان از خرداد تا مرداد ۱۳۹۰ بود. معیارهای ورود به مطالعه شامل افراد ورودی به اورژانس بیمارستان الزهرا (س) از ابتدای سال ۱۳۹۰ که کد بستری گرفته بودند و سن بالای ۶۵ سال بود. همچنین بیماران فاقد کد بستری، بیماران فاقد برگه‌ی تریاژ و بیماران بستری مستقیم در بخش، از مطالعه خارج شدند. اطلاعات مورد نیاز طرح با مراجعه‌ی پژوهشگر به واحد مدارک پزشکی بیمارستان الزهرا (س) و بررسی پرونده‌ی بیماران بالای ۶۵ سال بستری شده از ابتدای سال ۱۳۹۰ انجام گرفت. اطلاعات به دست آمده در چک لیست ویژه‌ای که به همین منظور تهیه شده بود، وارد گردید و در صورتی که پرونده‌ای دارای نقص اطلاعاتی بود و امکان تکمیل اطلاعات وجود نداشت، از مطالعه حذف و پرونده‌ی دیگری جایگزین آن می‌گردید.

داده‌های مطالعه بعد از جمع‌آوری وارد رایانه شد و به وسیله‌ی نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۰ (version 20, SPSS Inc., Chicago, IL) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. آزمون‌های آماری مورد نیاز شامل آزمون‌های t، ANOVA (Analysis of variance)، Fisher's exact، آزمون همبستگی Pearson و نیز آزمون χ^2 بود.

یافته‌ها

در این مطالعه ۴۰۰ سالمند مراجعه کننده به مرکز آموزشی- درمانی الزهرا (س) مورد مطالعه و بررسی قرار گرفتند. میانگین سن این سالمندان ۷ ± ۷۶ سال بود. حداقل و حداکثر سن افراد به ترتیب ۶۵ و ۹۵ سال بود.

۲۵۲ نفر (۶۳ درصد) از بیماران مرد و ۱۴۸ نفر (۳۷ درصد) زن بودند. میانگین سن مردان و زنان به ترتیب ۶/۹ ± ۷۵/۹ و ۷/۲ ± ۷۶/۳ سال بود و طبق آزمون t اختلاف معنی‌داری بین میانگین سن دو گروه وجود نداشت (P = ۰/۶۶۰).

در شکل ۱، درصد فراوانی شکایت اصلی بیماران مراجعه کننده نشان داده شده است که طبق آن، شایع‌ترین شکایت، اختلالات گوارشی و در مرحله‌ی بعد تنگی نفس بوده است. در حالی که مواردی مثل برق گرفتگی، گلودرد، شوک آنافیلاکسی و هموپتزی در این گروه سنی مشاهده نشد.

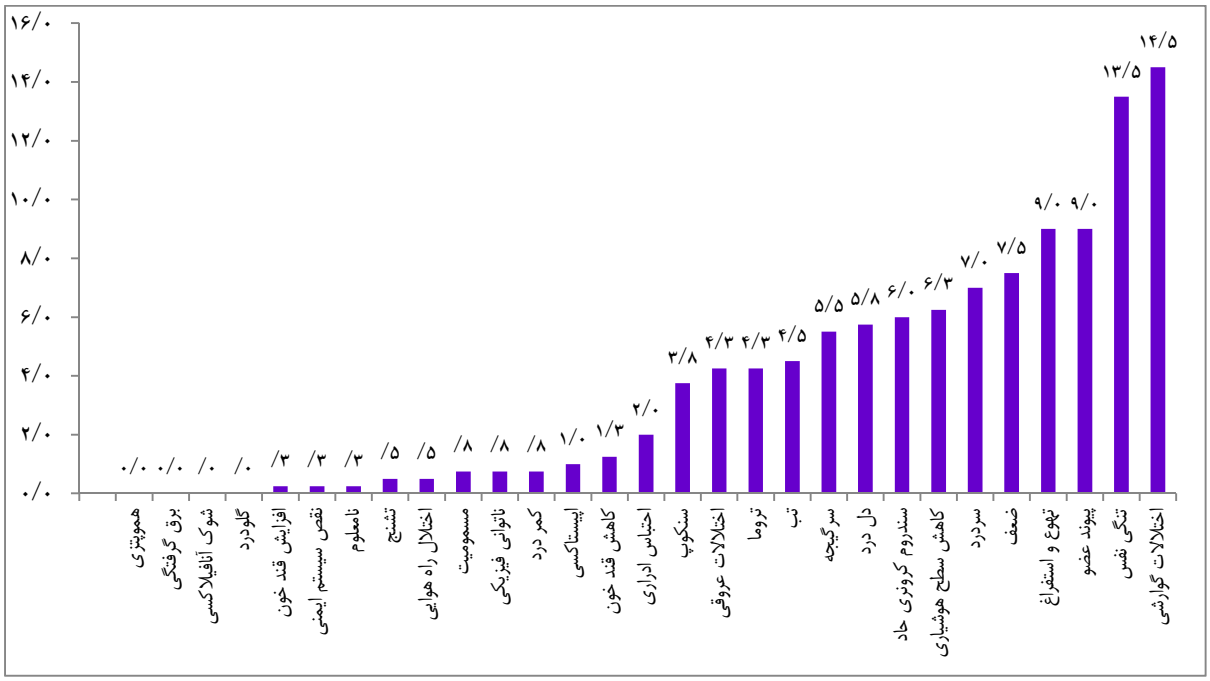
در شکل ۲، درصد فراوانی سرویس بستری کننده‌ی بیماران مورد مطالعه نشان داده شده است که طبق آن بیشترین بیماران سالمند به وسیله‌ی سرویس داخلی با فراوانی ۳۶/۸ درصد و در مرحله‌ی بعد، طب اورژانس با فراوانی ۲۷ درصد بود. به طور متقابل، کمترین موارد بستری توسط گروه پوست و فک و صورت انجام گرفت.

آزمون ANOVA نشان داد که میانگین سن بیماران بستری شده بر حسب نوع سرویس بستری کننده، اختلاف معنی‌داری ندارد (P = ۰/۱۷۰). انجام آزمون Fisher's exact بر روی این داده‌ها نیز نشان داد که توزیع فراوانی بیماران بستری شده بر حسب جنس بیمار نیز اختلاف معنی‌دار ندارد (P = ۰/۴۰۰).

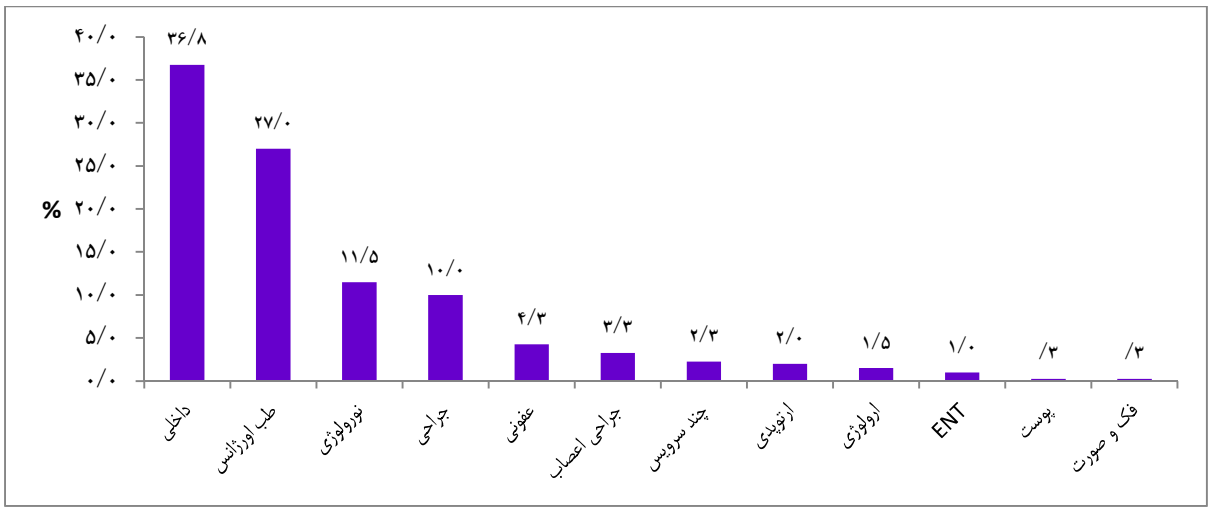
میانگین مدت بستری سالمندان مورد مطالعه ۰/۸ ± ۱/۳ روز با دامنه‌ی ۱۱-۱ روز بود. میانگین مدت بستری در مردان و زنان مورد مطالعه ۰/۹ ± ۱/۳ و ۰/۶ ± ۱/۳ روز بود و طبق آزمون t

اختلاف معنی‌داری بین مدت بستری زنان و مردان مشاهده نشد (P = ۰/۸۱۰). از طرف دیگر، بین مدت بستری و سن بیماران همبستگی به میزان ۱۳۰ درصد وجود داشت که طبق آزمون همبستگی Pearson معنی‌دار بود (P = ۰/۰۰۹). به عبارت دیگر، با افزایش سن بیماران، مدت بستری به طور معنی‌داری بالاتر می‌رود.

قابل ذکر است مدت بستری بر حسب سرویس بستری کننده نیز اختلاف معنی‌دار داشت؛ به طوری که بالاترین مدت بستری مربوط به سرویس جراحی اعصاب با میانگین ۲/۸ ± ۲/۲ روز و کمترین مدت بستری مربوط به سرویس‌های پوست و فک و صورت با میانگین ۱ روز بود (شکل ۳).

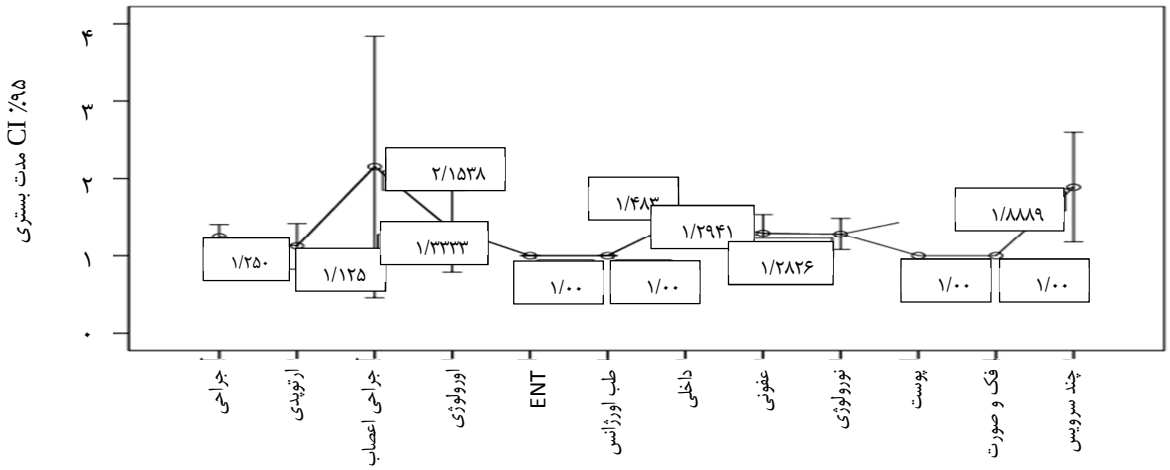


شکل ۱. درصد فراوانی شکایت اصلی بیماران تحت مطالعه



شکل ۲. درصد فراوانی سرویس بستری کننده‌ی بیماران

از ۴۰۰ سالمند مطالعه شده، ۳۷۶ نفر (۹۴ درصد) ترخیص شدند و ۲۴ نفر (۶ درصد) فوت نمودند. میانگین سن بیماران ترخیص شده و فوت شده به ترتیب ۶/۹ ± ۷۶/۰ و ۹/۰ ± ۷۷/۸ سال بود و طبق آزمون t، میانگین سن بیماران ترخیص شده و فوت شده اختلاف معنی‌دار نداشت (P = ۰/۲۳۰). ۲۳۹ نفر از بیماران ترخیص شده و ۱۳ نفر از بیماران فوت شده مرد بودند (۶۳/۶ درصد در مقابل ۵۴/۲ درصد) و طبق آزمون χ^2، بین فوت و جنس بیمار اختلاف معنی‌دار وجود نداشت (P = ۰/۳۶۰). همچنین بر حسب آزمون One-way analysis of variance بین سرویس بستری کننده و مرگ بیمار نیز ارتباط معنی‌دار وجود نداشت (P = ۰/۱۴۰) (جدول ۱).



شکل ۳. میانگین و دامنه‌ی اطمینان مدت بستری بر حسب سرویس بستری کننده

جدول ۱. توزیع فراوانی ترخیص و فوت بر حسب متغیرهای مورد مطالعه

متغیر	سر انجام سطح	ترخیص	فوت	مقدار P
سن	میانگین	۶/۹ ± ۷۶/۰	۹/۰ ± ۷۷/۸	۰/۲۳۰
جنس	مرد تعداد (درصد)	۲۳۹ (۶۳/۶)	۱۳ (۵۴/۲)	۰/۳۶۰
	زن تعداد (درصد)	۱۳۷ (۳۶/۴)	۱۱ (۴۵/۸)	
سرویس بستری کننده	جراحی تعداد (درصد)	۲۷ (۱۰/۷)	۱۳ (۸/۸)	۰/۴۰۰
	ارتوپدی تعداد (درصد)	۴ (۱/۶)	۴ (۲/۷)	
	جراحی اعصاب تعداد (درصد)	۸ (۳/۲)	۵ (۳/۴)	
	اورولوژی تعداد (درصد)	۶ (۲/۴)	۰(۰)	
	ENT تعداد (درصد)	۴ (۱/۶)	۰(۰)	
	طب اورژانس تعداد (درصد)	۶۶ (۲۶/۲)	۴۲ (۲۸/۴)	
	داخلی تعداد (درصد)	۹۵ (۳۷/۷)	۵۲ (۳۵/۱)	
	عفونی تعداد (درصد)	۱۱ (۴/۴)	۶ (۴/۱)	
	نورولوژی تعداد (درصد)	۲۳ (۹/۱)	۲۳ (۱۵/۵)	
	پوست تعداد (درصد)	۱ (۰/۴)	۰(۰)	
	فک و صورت تعداد (درصد)	۱ (۰/۴)	۰(۰)	
	چند سرویس تعداد (درصد)	۶ (۲/۴)	۳(۰)	

بحث

هدف کلی از انجام این مطالعه، تعیین فراوانی نسبی پذیرش و سرانجام سالمندان بستری شده در مرکز آموزشی- درمانی الزهرا (س) اصفهان در سال ۱۳۹۰ بود. در این مطالعه، ۴۰۰ نفر از بیماران با سن بالای ۶۵ سال و دارای پرونده در بیمارستان الزهرا(س)، مورد مطالعه و بررسی قرار گرفتند. میانگین سن این بیماران ۷ ± ۷۶ سال بود و تمامی بیماران جزء گروه هدف این مطالعه و نیازمند دریافت مراقبت‌ها و خدمات ویژه بودند. از نظر توزیع جنسی، ۶۳ درصد بیماران مطالعه شده مرد و ۳۷ درصد زن بودند. البته مطالعات و تحقیقات انجام گرفته نشان داده است آمار زنانی که به سن کهنسالی می‌رسند، بیشتر از مردان است؛ اما میزان مراجعه‌ی مردان به مراکز درمانی بیشتر از زنان می‌باشد.

همچنین در مطالعه‌ی حاضر، اختلاف معنی‌داری بین میانگین سن مردان و زنان وجود نداشت و شایع‌ترین علت مراجعه‌ی سالمندان به بیمارستان در درجه‌ی اول اختلالات گوارشی و در درجه‌ی دوم تنگی نفس بود؛ به طوری که این دو علت بیش از یک چهارم علل مراجعه‌ی سالمندان را تشکیل می‌دادند. مطالعات انجام گرفته در دیگر مناطق نیز نشان داده است که اختلالات گوارشی شایع‌ترین علت مراجعه‌ی سالمندان به پزشک و مراکز درمانی می‌باشد (۹، ۵). شیوع اختلالات گوارشی در سالمندان از یک سو مربوط به بیماری‌های مزمن گوارشی مانند زخم معده و اثنی عشر است که به دلیل اختلالات آنزیمی در سالمندان دارای شیوع بالاتری می‌باشد. از سوی دیگر، تغذیه‌ی نادرست و نامرتب در دوران سالمندی و مواجهه با عوامل روحی- روانی مانند افسردگی و استرس که در سالمندان شایع می‌باشد، نیز در بروز اختلالات گوارشی دخالت دارند.

در مطالعه‌ی مشابهی که توسط محتشم امیری و همکاران در شهر رشت انجام گرفت، اختلالات گوارشی سومین علت مراجعه‌ی بیماران به مراکز درمانی بوده است (۱۳). علت چنین اختلافی می‌تواند به ویژگی‌های منطقه بستگی داشته باشد. به عبارت دیگر، به واسطه‌ی تفاوت‌های جغرافیایی، ژنتیک و آب و هوایی ممکن است شیوع بیماری‌های سالمندی در منطقه‌ای با مناطق دیگر تفاوت داشته باشد. از طرف دیگر، نوع تخصص‌های موجود در بیمارستان نیز در این امر تأثیرگذار است.

در مطالعه‌ی حاضر، بیشترین تعداد افراد سالمند (بیش از ۶۰ درصد) توسط سرویس‌های داخلی و طب اورژانس پذیرش و بستری شده بودند. همچنین بستری شدگان توسط بخش داخلی اعصاب و جراحی نیز قابل توجه بودند؛ به طوری که ۱۱/۵ درصد بیماران توسط بخش داخلی اعصاب و ۱۰ درصد بیماران توسط بخش جراحی بستری شدند. از این رو، با توجه به نوع تخصص‌های موجود در بیمارستان بایستی به این مهم توجه کافی مبذول گردد و در جهت تقویت امکانات، تجهیزات و نیروی انسانی تخصص‌های مستقر در بیمارستان، به خصوص تخصص‌های داخلی و طب اورژانس اقدام گردد.

در مطالعه‌ی آصف‌زاده و همکاران نیز بیماری‌های گوارشی و ریوی دومین و سومین علت مراجعه‌ی افراد سالمند به مراکز درمانی بوده است (۱۴).

مطلب قابل ذکر دیگر این که برخی بیماری‌های دیگر که در سالمندان از شیوع بالایی برخوردار است، به ویژه بیماری‌های قلبی- عروقی در بیماران مراجعه کننده به این بیمارستان ذکر نشده است که علت آن

استقرار سانتر تخصصی قلب و عروق در مراکز درمانی نور و چمران است و اغلب بیماران قلبی- عروقی به این مراکز ارجاع می‌گردند، اما با توجه به اهمیت بیماری‌های قلبی- عروقی و این که در حال حاضر، بیماری‌های قلبی- عروقی مهم‌ترین علت مرگ در اغلب کشورها می‌باشند و در آینده نیز به واسطه‌ی سالمندتر شدن جمعیت، بار مراجعه‌ی سالمندان مبتلا به بیماری‌های قلبی- عروقی زیادتر خواهد شد، بایستی تمهیدات لازم در این خصوص اندیشیده شود و امکانات لازم جهت پذیرش و درمان بیماری‌های قلبی- عروقی در تمام مراکز درمانی فراهم گردد.

طبق نتایج به دست آمده از مطالعه‌ی حاضر، ۶ درصد بیماران پذیرش شده در بخش های مختلف بیمارستان فوت شده اند. البته فوت بیماران سالمند در تمامی مناطق جهان نسبت به افراد جوان بالاتر می باشد که به عوامل متعددی از جمله وخامت حال بیماران مسن بستری، مولتی سرویس بودن، وجود بیماری های زمینه‌ای و اضافه شدن عوامل ثانوی مانند عفونت بیمارستانی بستگی دارد. اما به هر حال، تکمیل و تجهیز امکانات درمانی در بیمارستان‌ها می‌تواند به میزان زیادی به نیازهای پزشکی سالمندان پاسخ دهد و از مرگ و میر بیماران سالمند در مراکز درمانی بکاهد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی اصفهان به دلیل حمایت مالی از این پژوهش سپاسگزاری می‌گردد.

References

1. Movaghari M, Nikbakht Nasrabadi AR. An investigation into the quality of spiritual rehabilitation in hospitalized elderly patients in mental ward. Payesh 2013; 2(2): 121-6. [In Persian].
2. Momen Heravi M, Afzali H, Soleimani Z, Matin M. Common infectious diseases among the hospitalized elderly patients. Salmand Iran J Ageing 2011; 6(20): 64-70. [In Persian].
3. Avila J. Assessment of health care needs of elderlies. NBC 2008; 9:46-52.
4. SoRelle R. The witching hour: overcrowded emergency departments. Emerg Med News 1999; 21(2): 40-1.
5. Trydegard GB. Ministry of Health and Social Affairs, Policy for the Elderly. CHESS 2005;18:6-9.
6. Schmidt TA, Salo D, Hughes JA, Abbott JT, Geiderman JM, Johnson CX, et al. Confronting the ethical challenges to informed consent in emergency medicine research. Acad Emerg Med 2004; 11(10): 1082-9.
7. Trydegard GB. Welfare services for the elderly in Sweden at the beginning of the 21st century still in line with the nordic welfare state model?. Stockholm, Sweden: Stockholm University Center for Health Equity Studies; 2000.
8. Hideo Ibe. Aging in Japan. New York, NY: International Longevity Center- USA; 2000. p. 1-5.
9. Horika CY. Do the elderly dissave in Japan? Osaka, Japan: Osaka University, Institute of Social and Economic Research (ISER), National Bureau of Economic Research (NBER); 2004.
10. The ways some japanese live now. Japan-map.jpg. Three Problematic Age Groups. A Symposium at. The University of Michigan January 11-13, 2002.
11. Saidel AM. Japan's long-term care insurance system faces overhaul: straining to meet demand, lawmakers set to make changes. Washington, DC; American Association of Retired Persons; 2004.
12. Alimagham M, Bahador M. Survey of infection prevalence in elderly patients (>65) in infections ward of hospitals of Shaheed Beheshti University, 2000-2001. Iran J Infect Dis Trop Med 2003; 22(8): 57-61.
13. Mohtasham Amiri Z, Toloei MH, Farazmand E. Causes of patients' hospitalization in Guilan University hospitals. J Guilan Univ Med Sci 2002; 11(42): 28-32. [In Persian].
14. Assefzadeh M, Ghasemi R, Zoghi F .Common infections of elderly patients admitted in Bou Ali Sina teaching Hospital. J Birjand Univ Med Sci 2005; 12(23-22): 53-9.

Journal of Isfahan Medical School
Received: 15.04.2014
Vol. 32, No. 295, 4th Week, September 2014
Accepted: 29.08.2014

Evaluation of Relative Frequency of Acceptance and Finally Hospitalized Elderly in Al-Zahra Hospital, Isfahan, Iran

Parviz Kashefi MD[1], Hossein Darabi[2], Ali Mehrabi-Koshki MSc[3]

Original Article

Abstract

Background: Increase in human aging years, due to remarkable and progressive expansion of medical science and technology, has got the humanity to special attention and attitude toward the elderly who have a plausible role in this progression. So, medical cares related to elderly is of great importance. Surly, the process of diagnosis and rehabilitations related to elderly confront its difficulties and demands special care. Knowing about common diseases, which need hospitalization in elderly, helps future educational and treatment plans. The aim of this study was to evaluate the causes of elderly hospitalization and the outcomes in the greatest hospital of Isfahan province, Iran.

Methods: This cross-sectional study was done in Alzahra Hospital during 2011. All elderly patients, older than 65 years, who referred to this hospital, were included in this study. Age, sex, chief complain, admitted service and duration of admission were recorded. Data were analyzed via $SPSS_{13.5}$ statistical software. P-value less than 0.05 consider as significant level.

Findings: The most common chief complains were gastrointestinal disorder and dyspnea, respectively. Electric shock, sore throat, anaphylaxis shock and hemoptysis were not common.

Conclusion: According to high prevalence of referral elderly patient to this hospital, increasing of elderly population in future year and shifting the disease load to these patients, the necessary percussion should be considered.

Keywords: Hospital, Elderly, Geriatric diseases

Citation: Kashefi P, Darabi H, Mehrabi-Koshki A. **Evaluation of Relative frequency of acceptance and finally hospitalized elderly in Al-Zahra Hospital, Isfahan, Iran.** J Isfahan Med Sch 2014; 32(295): 1186-96

* This paper is derived from a medical doctorate thesis in Isfahan University of Medical Sciences.

1- Professor, Department of Anesthesiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
2- Student of Medicine, School of Medicine AND Student Research Committee, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
3- Epidemiologist, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
Corresponding Author: Hossein Darabi, Email: hossein_darabi83@yahoo.com

مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و دوم/شماره ۲۹۵/هفته چهارم شهریور ماه ۱۳۹۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۳/۲۵
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۵/۲۴

بروسلا: بیماری‌زایی، واکنش سیستم ایمنی و واکسن

دکتر امیر قاسمی[۱]، دکتر رضا رنجبر[۲]

مقاله مروری

چکیده

باکتری‌های جنس بروسلا، پاتوژن‌هایی داخل سلولی هستند که می‌توانند در داخل ماکروفاژهای بدن میزبان خود، تکثیر و به بقای خود ادامه دهند که حاصل آن مشکلات بسیاری برای میزبان به وجود خواهد آورد. نتایج مطالعات اخیر پیشرفت‌هایی در زمینه‌ی چگونگی بقا و تکثیر داخل سلولی این باکتری را نشان می‌دهد. در این مقاله، آخرین یافته‌ها در این زمینه مورد مرور و بررسی قرار می‌گیرد. همچنین واکنش ایمنی بدن میزبان به این پاتوژن و استراتژی‌های جدید به کار رفته به منظور ساخت واکسن علیه این باکتری، بررسی می‌شود.

واژگان کلیدی: بروسلا، واکسن، بیماری‌زایی، ماکروفاژ

ارجاع: قاسمی امیر، رنجبر رضا. **بروسلا: بیماری‌زایی، واکنش سیستم ایمنی و واکسن.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۲۹۵): ۱۲۱۵-۱۱۹۷

مقدمه

بروسلاها باکتری های کوکوباسیل گرم منفی کوچک، باریک و کوتاهی هستند که گاهی به شکل باسیل و یا کوکسی نیز مشاهده می‌شوند. حدود ۰/۶-۱/۵ µm طول و ۰/۵-۰/۷ µm عرض دارند. غیر متحرکند و اسپور تولید نمی کنند. از منابع طبیعی، شکل L-form باکتری نیز جداسازی شده است (۱). تمامی سویه‌های بروسلا هوازی هستند و برای رشدشان به اکسیژن نیاز دارند. بعضی سویه‌ها کاپنوفیل (Capnophile) هستند و به مکمل CO_2 نیاز دارند.

از نظر نوع میزبان و تغییرات آنتی‌ژنیک جنس بروسلا به هفت گونه تقسیم شده است که شامل بروسلا ملی تنسیس (Brucella melitensis) (گوسفند و بز)، بروسلا سویس (B.suis) (خوک)، بروسلا آبورتوس (B.abortus) (گاو)، بروسلااویس (B.ovis) (گوسفند)، بروسلا کنیس (B.canis) (سگ)، بروسلا نئوتوما (B.neotomae) (موش) و بروسلا ماریس (B.maris) (پستانداران دریایی) می‌باشند (۳-۲). بروسلا آبورتوس باعث ایجاد سقط در گاو و در نتیجه صدمات جدی اقتصادی به کشاورزان می‌شود. در حال حاضر، بروسلا آبورتوس سویه RB۵۱ و یا بروسلا ملی تنسیس REV.۱ برای ایمن‌سازی گاو و ایمن‌سازی بز و گوسفند مورد استفاده قرار می‌گیرند (۴). اگر چه بروسلا یک پاتوژن واقعی است، اما سیستم‌های ترشحی نوع I، II، III و جزایر بیماری‌زایی (Pathogenicity islands) در آن یافت نشده است. با این حال، بروسلا ملی تنسیس حاوی ژن کد کننده‌ی تاژک خاص نوع III و سیستم ترشحی IV می‌باشد (۶-۵).

۱- استادیار، گروه میکروب‌شناسی و ایمنی‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران
۲- دانشیار، مرکز تحقیقات بیولوژی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌اله (عج)، تهران، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر امیر قاسمی
Email: ghasemia77@yahoo.com

در حال حاضر، شش گروه از باکتریوفاژها به عنوان لیز کننده برای بروسلا شناخته شده‌اند. با این حال، وجود باکتریوسینی خاص بروسلا و یا هیچ مدرکی دال بر انتقال ژن از طریق باکتریوفاژها تأیید نشده است (۲). عفونت بروسلا از طریق استنشاق یا بلع میکروارگانیزم‌ها و از طریق حفرات بینی، دهان و حلق رخ می‌دهد (۷).

بیماری‌زایی

به طور کلی، بروسلا در تمامی میزبان‌های خود رشد داخل سلولی دارد و پس از آلوده کردن سیستم رتیکولوانـــدوتلیال (Reticuloendothelial system) مراحل متغیر باکتریمی (Bacterimic) را سبب می‌شود. همچنین بروسلا در میزبان های خود، توانایی آلوده کردن بافت‌های دستگاه تناسلی و غدد جنسی را دارد.

راه‌های بقای بروسلا در درون سلول ماکروفاژ

با توجه به میزان بالای عفونت زایی، بروسلا به تازگی به عنوان یک عامل بالقوه در جنگ‌های بیولوژیکی طبقه‌بندی شده است (۸). توجه به زیست‌شناسی این پاتوژن، به ویژه به عنوان یک مدل پیچیده‌ی انگل درون سلولی در حال افزایش می‌باشد. بیماری‌زایی بروسلا، اغلب در توانایی این میکروارگانیزم در وارد شدن، زنده ماندن و تکثیر شدن در داخل سلول‌های فاگوسیتوزی و غیر فاگوسیتوزی می‌باشد که در این میان، ماکروفاژها عمده‌ترین هدف در پستانداران آلوده هستند (۹).

۱- ورود باکتری به عنوان عامل تعیین کننده در بقای داخل سلولی

ورود بروسلا به ماکروفاژها نیاز به گروهی از چربی‌ها دارد (۱۰) که نشان دهنده‌ی حضور گیرنده‌هایی بر روی نواحی خاصی از غشای پلاسمایی است. پروتئین پرایون (Prion) (PrPc) و گیرنده‌ی اسکونجر کلاس ۱ (SR-A) به ترتیب به عنوان گیرنده‌ای برای اتصال Hsp۶۰ در معرض سطح سلولی قرار می‌گیرد و LPS (Lipopolysaccharide) بروسلا پیشنهاد شده است (۱۱)، اما نقش PrPc در عفونت بروسلا هنوز مورد بحث است (۱۲).

از بین بردن این گروه‌های چربی، بقای اولیه‌ی بروسلا در درون ماکروفاژها را به میزان قابل توجهی کاهش می‌دهد، که نشان دهنده‌ی این است که ورود وابسته به این دسته‌های چربی برای بقای اولیه‌ی باکتری مورد نیاز است (۱۳، ۱۰).

چنین حالتی از ورود، بروسلا را قادر می‌سازد به دلیل حضور این دسته‌های چربی، از هر گونه تعاملی با مسیرهای درون سلولی اجتناب کند (۱۴). به دلیل این یافته، این فرضیه شکل گرفته است که در مراحل ابتدایی ورود، واکوئل‌های تشکیل شده‌ی حاوی باکتری BCVs (Brucella-containing vacuoles) فقط به طور گذرا با قسمت‌های اولیه‌ی مسیرهای تجزیه‌ی داخل سلولی ماکروفاژها و اپیتلوئیدها (Epithelioid) درگیر شوند (۱۷-۱۵) و در ادامه، بروسلا می‌تواند به سرعت خود را از مسیرهای تجزیه‌ی داخل سلولی محفوظ نگه دارد (۱۸).

گزارش شده است که موتان های خشن B .suis که فاقد زنجیره‌ی LPS-O هستند، با استفاده از روشی مستقل از دسته‌های چربی وارد ماکروفاژها می‌شوند و واکوئل‌های حاوی باکتری به سرعت با لیزوزوم متصل می‌شوند (۱۸). این نتایج علاوه بر تأیید بقای اولیه با ورود به واسطه‌ی دسته‌های چربی و اهمیت

زیاد LPS سالم و دست نخورده در این فرایند، نشان می‌دهد که بقای اولیه در هنگام ورود به سلول حاصل اجتناب از الحاق لیزوزوم و واکوئل‌های حاوی بروسلا است.

سویه‌های بروسلا دارای LPS صاف (Smooth)کشته شده به وسیله‌ی حرارت، هنوز می‌توانند از الحاق واکوئل‌های حاوی باکتری با لیزوزوم حتی بیشتر از موتان‌های خشن (Rough) جلوگیری کنند. با این حال، تأثیر مرتبط با LPS صاف در جلوگیری از الحاق با لیزوزوم گذرا است و موجب بقای طولانی مدت بروسلا در داخل سلول نمی‌شود. این امر، نشان دهنده‌ی دیگر عوامل مورد نیاز برای کامل کردن سیکل داخل سلولی باکتری‌ها می‌باشد.

۲- بتا ۱,۲-گلوکان حلقوی (β-۱,۲-glucan) از الحاق با لیزوزوم جلوگیری می‌کند

مکانیسم دیگری که به وسیله‌ی بروسلا به منظور اجتناب از ملحق شدن با لیزوزوم به کار گرفته شده است، ترشح بتا ۱,۲-گلوکان حلقوی می‌باشد (۱۹). این ماده، به طور معمول یک جزء پریپلاسمی است که به وسیله‌ی آلفا پروتئوباکتری‌ها تولید می‌شود. یکی از نقش‌های نسبت داده شده به این ماده، تنظیم فشار اسمزی است (۲۰). مورد دیگری که در مورد عملکرد این محصول پیشنهاد شده است، جلوگیری از واکنش دفاعی گیاه در مقابل یک نوع باکتری همزیست با گیاه (Bradyrhizobium japonicum) می‌باشد (۲۱).

بروسلا هایی که نقص در ژن تولید کننده‌ی بتا ۱,۲-گلوکان حلقوی (cgs یا Cyclic glucan synthesis) دارند، توانایی اجتناب از الحاق با لیزوزوم و یا رسیدن به ارگانل‌های مشتق شده از رتیکولوم اندوپلاسمی را ندارند (۲۲).

نشان داده شده است که افزودن بتا ۱,۲-گلوکان حلقوی از یک منبع خارجی به موتان‌های cgs طی رشد و قبل از عفونی کردن سلول، می‌تواند باعث احیای رفت و آمد داخل سلولی مؤثر بروسلا همراه با تکثیر شود (۱۹).

به موتان‌هایی که بتا ۱,۲-گلوکان حلقوی اضافه شد، سوش‌های موتان توانستند از الحاق واکوئل حاوی باکتری با لیزوزوم جلوگیری کنند و در نهایت، در ارگانل‌های مشتق شده از غشای رتیکولواندوپلاسمی تکثیر داشته باشند. عملکرد بتا ۱,۲-گلوکان حلقوی بدین نحو است که این ترکیب، توانایی استخراج کلسترول از غشای یوکاریوتی را دارد و این عملکرد می‌تواند در برداشتن دسته‌های غنی از چربی و کلسترول (که همچنین از نظر Flotillin-۱ غنی هستند)، از روی واکوئل حاوی باکتری، مؤثر باشد.

گفته شده است فلوتینین-۱ در امر سیگنال‌دهی به مسیرهای تجزیه‌ی داخل سلولی و فعال کردن آن دخالت دارد. در نتیجه، بتا ۱,۲-گلوکان حلقوی ترشح شده به وسیله‌ی بروسلا در داخل واکوئل حاوی باکتری در عمل، پوششی از دیواره‌ی سلول یوکاریوتی سازنده‌ی واکوئل در اطراف خود ایجاد می‌کند که فاقد فلوتینین-۱ است. این عمل، باعث فراخوانی مسیر تجزیه‌ی داخل سلولی و به دنبال آن، جلوگیری از اتصال واکوئل با لیزوزوم می‌شود (۲۳).

با این وجود، کشف بتا ۱,۲-گلوکان حلقوی در بروسلا نشان می‌دهد که این باکتری از استراتژی‌های متفاوتی برای جلوگیری از تجزیه‌ی داخل سلولی در مراحل اولیه‌ی ورود استفاده می‌کند (۲۴).

۳- سیستم ترشحی نوع چهار و تکامل نوعی از ارگانل که قابلیت تکثیر باکتری را درون خود می‌دهد

الف- بلوغ واکوئل حاوی بروسلا درون ارگانل مشتق شده از سیستم رتیکلواندوتلیال

با وجود عدم الحاق واکوئل حاوی بروسلا با لیزوزوم، این واکوئل حاوی بروسلا با مسیر تجزیه‌ی داخل سلولی به طور گذرا واکنش می‌دهد. مراحل اولیه‌ی بلوغ واکوئل حاوی بروسلا با اسیدفیکاسیون آغاز می‌شود که همراه با به دست آوردن گلیکو پروتئین شماره ۱ غشایی لیزوزومی (LAMP۱) بر روی غشای واکوئل حاوی بروسلا است (۲۵). اما بعضی نشانگرهای مسیر تجزیه‌ی داخل سلولی انتهایی بر روی واکوئل حاوی بروسلا بالغ وجود ندارد و این نشان دهنده‌ی این است که واکوئل‌های حاوی بروسلای بالغ به سرعت از این مسیر جدا می‌شوند. اسیدفیکاسیون برای بقای بروسلا ضروری است (۲۶) و همچنین برای ترشح داخل سلولی سیستم ترشحی توع چهار VirB مورد نیاز است (۲۷).

این موضوع نشان می‌دهد که واکنش محدود واکوئل‌های حاوی بروسلا با لیزوزم اولیه، برای نقل و انتقال‌های بعدی این واکوئل‌های حاوی بروسلا در درون سلول ضروری است. بلوغ واکوئل‌های حاوی بروسلا حدود ۱۲ ساعت قبل از تکثیر بروسلا شروع و LAMP۱ را تا زمانی که به صورت تصاعدی از دست بدهند، حفظ می‌کنند.

در این مراحل دیده می‌شود که واکوئل‌های حاوی بروسلا با سیستم رتیکلواندوپلاسمی (Endoplasmic reticulum) به صورت فیزیکی واکنش داده است (۱۷). این واکنش طولانی مدت منجر به از دست دادن LAMP۱ و به دست آوردن مولکول‌های اختصاصی رتیکلواندوپلاسمی می‌شود. این موضوع، نشان دهنده‌ی این است که بروسلا حرکت واکوئل میانجی خود را به درون یک ارگانل مشتق از اندوپلاسمیک کنترل می‌کند (۱۷).

آغاز تکثیر باکتری با تکامل ارگانل مشتق شده از رتیکلواندوپلاسم ارتباط دارد. این موضوع نشان دهنده‌ی این است که این ارگانل محیط مناسبی برای تکثیر بروسلا است. علت این که ارگانل‌ها می‌توانند محیط مناسبی برای تکثیر باکتری باشند، این است که مواد ضروری برای تکثیر باکتری در بخش‌های اولیه‌ی مسیر ورود باکتری وجود ندارد و زمانی که واکوئل‌های حاوی بروسلا به رتیکلواندوپلاسمی ملحق می‌شوند، منجر به در دسترس قرار گرفتن مواد ضروری برای تکثیر بروسلای موجود در این ارگانل می‌شود. در نتیجه، به دلیل بیان برخی از ژن‌ها در این مرحله و در دسترس بودن مواد غذایی مورد نیاز، باکتری شروع به تکثیر می‌کند. زمانی که تکثیر بروسلا آغاز شد، چرخه‌های دو برابر شدن بعدی از طریق تولید واکوئل جداگانه حاوی بروسلا رخ می‌دهد. تولید دو واکوئل حاوی بروسلا از یک واکوئل حاوی بروسلا، نیازمند به کارگیری غشای اضافی است که شاید از طریق انتقال بیشتری از غشای رتیکلواندوپلاسم به واکوئل حاوی بروسلا صورت می‌گیرد (۱۷).

ب- نقش سیستم ترشحی نوع چهار VirBدر بلوغ واکوئل حاوی بروسلا

شناسایی سیستم ترشحی نوع چهار به عنوان عامل بیماری‌زایی و تکثیر داخل سلولی، درک ما را از بقای طولانی مدت بروسلا و استراتژی‌های تکثیر آن افزایش داده است (۲۸).

مطالعات بر روی حرکت داخل سلولی انواعی از موتانت‌های حذفی VirB آشکار کرده است که سیستم VirB در مراحل اولیه‌ی ورود به داخل سلول ماکروفاژ مورد نیاز نیست، اما برای رخدادهای انتهایی بلوغ واکوئل‌های حاوی بروسلا، در زمانی که واکوئل‌ها شروع به الحاق با رتیکلواندوپلاسم می‌کنند، مورد نیاز است (۲۹).

در اثبات این امر نشان داده شده است که موتان‌های VirB و همچنین بروسلاهای تیپ وحشی طی اولین ساعات بعد از عفونت زنده می‌مانند؛ تا این که آن‌ها توانایی به دست آوردن نشانگرهای رتیکلواندوپلاسم را در مراحل انتهایی عفونت از دست بدهند. این امر، به دلیل عدم توانایی الحاق سویه‌های موتان با این قسمت است. چنین سوش‌های موتان سرانجام با لیزوزوم ممزوج می‌شوند. در نتیجه، واکوئل مشتق شده از رتیکلواندوپلاسم، برای اجتناب طولانی مدت از الحاق با لیزوزوم مورد نیاز است. احتمال می‌رود این سیستم با ترشح مولکول‌هایی به داخل سلول میزبان بر عملکرد سلول در کنترل حرکت و الحاق باکتری به رتیکلواندوپلاسم تأثیر مثبت بگذارد (۳۰).

۴- پروتئین‌های شوک حرارتی (Heat shock proteins)

احتمال می‌رود پاتوژن‌های باکتریایی که مدت زمان طولانی را در فاگوسیت‌های میزبان به سر می‌برند، ژن‌های متنوعی را بیان می‌کنند که محصولات این ژن‌ها به آن‌ها در تطبیق با شرایط سخت داخل سلولی از جمله pH، کمبود مواد غذایی، واسطه‌های فعال اکسیژن (ROIs) و نیز واسطه‌های فعال نیتروژن (RNIs) کمک می‌کنند.

علاوه بر این، پروتئین‌های شوک حرارتی به باکتری این توانایی را می‌دهند که در مقابل آنزیم‌های لیزوزمی که در فاگوزوم با آن روبه‌رو می‌شوند، مقاومت نشان دهند (۳۲-۳۱). عامل اصلی بیان پروتئین‌های شوک حرارتی، شاید پیچ‌های نامناسب پروتئین‌ها و آسیب‌هایی است که در داخل سلول به پروتئین‌های باکتری وارد می‌شود (۳۳).

نشان داده شده است که سویه‌های بروسلا سویس که دارای موتاسیون در ژن dnak هستند (این ژن جزء خانواده‌ی بزرگ HSP۷۰ است)، قدرت بیماری‌زایی خود را در رده‌ی سلول‌های ماکروفاژ انسانی از دست داده‌اند (۳۴).

همچنین سویه‌های بروسلا آبورتوس که دارای ژن فعال htraA نیستند (این امر منجر به نقص در تولید یک سرین پروتئاز می‌شود که به عنوان پروتئین شوک حرارتی عمل می‌کند)، به عنوان سوشی غیر بیماری‌زا در شرایط In vivo و In vitro در نظر گرفته می‌شوند. از این رو، ممکن است به دلیل مواجهه‌ی باکتری با شرایط سخت در داخل سلول، پروتئین‌های شوک حرارتی بیشتر تولید شوند و در بیماری‌زایی باکتری نقش عمده‌ای بازی کنند (۳۵).

عامل شماره‌ی ۱ میزبانی (HF۱): یک نوع چاپرون (Chaperone) است که در بسیاری از مسیرهای تنظیمی باکتری E.coli مشارکت دارد (۳۶). این پروتئین به عنوان پروتئینی که در مراحل بعد از رونویسی عمل می‌کند، شناخته شده است و می‌تواند بیان عامل سیگما و همچنین بیان ژن S olymerasesigma RNA (RpoS) را تنظیم کند. پروتئین RpoS در مرحله‌ی ثابت رشد باکتری، مورد نیاز است.

سویه‌های بروسلا آبورتوس دارای موتاسیون در ژن بیان کننده‌ی این پروتئین (hfq)، به H۲۰۲ استرس اسید در مرحله‌ی سکون حساس است و از این رو، در ماکروفاژهای صفاقی موش BalB/c توانایی تکثیر ندارند. به همین دلیل، پیشنهاد شده است چاپرون‌هایی مانند HF۱ در بیماری‌زایی بروسلا نقش داشته باشند (۳۷).

واکنش سیستم ایمنی به بروسلا

- ایمنی ذاتی

ایمنی ذاتی از واکنش‌های ایمنی غیر اختصاصی در مراحل اولیه‌ی عفونت قبل از ایمنی اکتسابی به پاتوژن پاسخ می‌دهد. بنابراین نقش اصلی ایمنی ذاتی در بدن میزبان، کاهش تعداد باکتری‌های عفونی بدون ایجاد هیچ نوع حافظه‌ای است؛ همچنین زمینه‌ای برای ایجاد واکنش‌های ایمنی اکتسابی از نوع Th۱ (T helper۱) در میزبان را فراهم می‌کند.

الف- کمپلمان

کمپلمان سیستمی متشکل از پروتئین‌های پلاسمایی است که یا به آنتی‌بادی‌ها متصل می‌شوند و یا با سطح دیواره‌ی باکتری کمپلکس تشکیل می‌دهند و از این طریق، به منظور اپسونیزاسیون (Opsonization) و یا کشتن مستقیم پاتوژن‌ها به وسیله‌ی تشکیل کمپلکس حمله کننده به غشای باکتری‌های گرم منفی عمل می‌کنند (۳۷).

امروزه ۳ مسیر از فعالیت کمپلمان تشریح شده است. ۱) مسیر کلاسیک که به وسیله‌ی واکنش آنتی‌بادی- آنتی‌ژن فعال می‌شود، ۲) مسیر دیگر که به وسیله‌ی ساختارهای ویژه‌ای بر روی سطح میکروارگانیسم‌ها در یک مسیر مستقل از آنتی‌بادی فعال می‌شود، ۳) مسیر لکتین که به وسیله‌ی اتصال لکتین متصل شونده به مانوز به کربوهیدرات‌های سطح میکروب فعال می‌شود.

به دلیل این که جزء اصلی سطح بروسلا یک LPS است، واکنش میان بروسلا و اجزای کمپلمان به وسیله‌ی این مولکول‌ها صورت می‌گیرد. اغلب، سویه‌های صاف بروسلا آبورتوس بسیار مقاوم‌تر از سویه‌های خشن فاقد پلی ساکارید O (OPS) در واکنش به فعالیت باکتریسیدال سرم هستند (۳۸-۳۹).

LPS به دست آمده از بروسلا آبورتوس، مسیر جایگزین را فعال نمی‌کند (۴۰)؛ بنابراین فعال شدن مسیر کلاسیک به وسیله‌ی IgM (Immunoglobulin M) و غلظت‌های پایین IgG (Immunoglobulin G) صورت می‌گیرد. این معمول‌ترین واکنش باکتریسیدال سرم علیه بروسلا آبورتوس است که در مراحل اولیه‌ی عفونت صورت می‌گیرد. نتایج یافته‌های اخیر با استفاده از موتان‌های Wbo بروسلا ملی تنسیس و بروسلا آبورتوس فاقد OPS نشان دهنده‌ی این است که هردو مسیر کلاسیک و مسیر وابسته به لکتین، در نشستن اجزای کمپلمان بر روی دیواره‌ی سلولی و در نتیجه کشتن باکتری نقش بازی می‌کنند (۴۱).

با این وجود، میزان افزایش یافته‌ی آنتی‌بادی‌های IgG۱ و IgG۲a در مراحل نهایی عفونت بروسلا در گاوها، از کشتن بروسلا در خارج سلول حتی اگر اپسونیزاسیون نیز رخ داده باشد، جلوگیری می‌کند (۳۹). این نقش دوگانه برای آنتی‌بادی و کمپلمان در واکنش سیستم ایمنی علیه بروسلا به واسطه‌ی اثر پروزون توصیف شده است (۴۰).

ب- نوتروفیل‌ها

نوتروفیل‌ها سلول‌هایی با نیمه‌ی عمر کوتاه هستند که ۷۰-۵۰ درصد سلول‌های خون انسان را تشکیل می‌دهند. کارکرد این سلول‌ها، بیگانه‌خواری (Phagocytosis) می‌باشد. بنابراین نوتروفیل‌ها اغلب، اولین سلول‌های سیستم ایمنی در بدن انسان در مواجهه با باکتری بروسلا هستند. بیگانه‌خواری سویه‌های بروسلا تخفیف حدت می‌یابد و بیماری‌زایی به وسیله‌ی نوتروفیل‌ها فقط زمانی رخ می‌دهد که اپسونیزاسیون با سرم طبیعی انسان انجام شده باشد (۴۲).

این موضوع نشان دهنده‌ی این است که اپسونیزاسیون پیش نیاز بیگانه‌خواری است. با این وجود، بقای بروسلا در نوتروفیل‌ها طی عفونت اولیه مشاهده شده است (۴۳).

ج- سلول‌های NK

این سلول‌ها گروه کوچکی از لنفوسیت‌های خونی هستند که فاقد مولکول‌های غشایی سلول‌های T و نشانگرهای سطحی سلول‌های B می‌باشند. این سلول‌ها، آنتی‌بادی نیز نمی‌سازند و با توجه به این که فاقد گیرنده‌ی شناسایی آنتی‌ژن هستند، فاقد ویژگی و خاطره می‌باشند. این‌ها ۱۰-۵ درصد لنفوسیت‌های خون محیطی انسان را تشکیل می‌دهند. سیتوتوکسیتی سلول‌های NK (Natural killer cells) انسانی در صورت تحریک توسط اینترلوکین ۱۲، افزایش می‌یابد (۴۴). این موضوع بیانگر آن است که سلول‌های NK نقش اساسی در حفاظت علیه بروسلوزیس بازی می‌کند. اما در نهایت، اعتقاد بر این است که نقش این سلول‌ها در مقابله با عفونت بروسلوز در موش‌ها کم است (۴۵).

د- ماکروفاژها

فعالیت‌های باکتری‌کشی ماکروفاژها شامل واسطه‌های فعال اکسیژن و واسطه‌های فعال نیتروژن است که به وسیله‌ی IFN-γ (Interferon gamma) و TNF-α (Tumor necrosis factor alph) تحریک می‌شود. نشان داده شده است که واسطه‌های فعال اکسیژن نقش مهم‌تری در کشتن باکتری داخل ماکروفاژ نسبت به واسطه‌های فعال نیتروژن در شرایط آزمایشگاهی بازی می‌کنند (۴۶). علاوه بر این، ذخیره‌ی آهن ماکروفاژها که به وسیله‌ی IFN-γ فعال می‌شوند، دارای توانایی بیشتری برای کشتن بروسلای داخل سلولی است (۴۷). همچنین نقش واسطه‌های فعال نیتروژن و واسطه‌های فعال اکسیژن در کنترل عفونت بروسلا در مراحل اولیه‌ی عفونت ثابت شده است (۴۸).

- ایمنی اکتسابی

واکنش ایمنی اکتسابی برای ایجاد حافظه، که یک نقش حیاتی در واکسیناسیون دارد، بسیار مهم است. عملکرد واکنش ایمنی اکتسابی در بروسلوزیس می‌تواند به ۳ مکانیسم تقسیم‌بندی شود: ۱- IFN-γ تولید شده به وسیله‌ی سلول‌های $CD8^+$، $TCD4^+$ و سلول‌های T γδ می‌تواند فعالیت باکتری‌کشی در ماکروفاژها را به منظور جلوگیری از بقای داخل سلولی بروسلا فعال کند، ۲- سیتوتوکسی‌سیتی سلول‌های $T\ CD8^+$ و T γδ ماکروفاژهای عفونی شده را افزایش می‌دهد و ۳- ایزوتایپ‌های آنتی‌بادی از قبیل IgG۳ و IgG۲a پاتوژن‌ها را به منظور تسهیل بیگانه‌خواری، اپسونیزه می‌کنند.

الف- سلول‌های $CD8^+$ و $T\ \alpha\beta CD4^+$

نقش اصلی سلول‌های T در ایمنی‌زایی علیه

بروسلا، ترشح INF-γ به منظور فعال کردن واکنش باکتری‌کشی در ماکروفاژها و نیز فعالیت لنفوسیت‌های T سیتوتوکسیک است. علاوه بر نقش‌های گفته شده، این سلول‌ها در تغییر IgG (Switching) به ایزوتایپ‌های IgG۳ و IgG۲a نیز نقش دارند. اهمیت سلول‌های T $CD۴^+$ و $CD۸^+$ در ایمنی علیه بروسلا بحث برانگیز است. تزریق جمعیت سلول‌های T $CD۴^+$ و $CD۸^+$ از یک موش ایمن شده به یک موش غیر ایمن، باعث شد این موش توانایی بیشتری در مقاومت در مقابل عفونت بروسلا در مقایسه با یک موش ایمن نشده نشان دهد (۴۹). اهمیت IFN-γ در پاک‌سازی عفونت بروسلا نیز نشان داده شده است (۵۰). با این وجود از نظر تعداد، سلول‌های T $CD۴^+$ بیشترین جمعیت سلول‌های T را دارا می‌باشند و این جمعیت، تولید کننده‌ی اصلی IFN-γ است. بنابراین سلول‌های $CD۴^+$ دارای نقش مهمی در مقابل بروسلوزیس است (۵۰).

از طرف دیگر، آزمایش‌های انجام شده بر روی موش‌های فاقد (Major histocompatibility complex) MHC کلاس ۲، نشان داده است که در این موش‌ها تولید سایتوکین‌هایی از قبیل IFN-γ و اینترلوکین ۲ به وسیله‌ی سلول‌های T $CD۸^+$ انجام می‌شوند. از این رو، تصور بر این است که سلول‌های T $CD۸^+$ نیز نقش بسیار مهمی در ایمنی علیه بروسلا دارند (۵۱).

ب- سلول‌های γδ T

بیماران آلوده شده با بروسلا ملی تنسیس حاوی تعداد زیادی از سلول‌های γδ T می‌باشند (۵۲). این سلول‌های T به وسیله‌ی آنتی‌ژن‌های غیر پروتئینی فعال می‌شوند و افزایش تعداد ارگانیزم‌های بروسلای داخل سلولی را به وسیله‌ی ترشح IFN-γ و TNF-α کنترل می‌کنند (۵۳).

ج-سلول‌های B

بسیاری از ایمونیزاسیون‌های پاسیو با استفاده از سرم، بر اهمیت ایمنی هومورال علیه بروسلوزیس صحه گذاشته‌اند. به طور مثال، انتقال سرم‌های حاوی آنتی‌بادی علیه LPS به موش، موش را در مقابل عفونت با سوش بروسلا آبورتوس محافظت می‌کند (۵۴). انتقال پاسیو مونوکلونال آنتی‌بادی IgG۲a علیه پلی ساکارید O، می‌تواند موش را در مقابل عفونت بروسلا آبورتوس محافظت کند (۵۵).

IgG۲a و IgG۳ ایزوتایپ‌های اصلی آنتی‌بادی‌هایی هستند که در موش آلوده شده به عفونت بروسلا شناسایی شده‌اند؛ این امر نشان دهنده‌ی واکنش ایمنی از نوع Th۱ علیه عفونت بروسلا است (۵۶).

احتمال می‌رود اپسونیزاسیون با افزایش کشتن داخل سلولی باکتری همراه باشد که به عنوان نقش اساسی آنتی‌بادی‌ها علیه عفونت بروسلا در نظر گرفته می‌شود. بر خلاف گزارش‌های متعدد از نقش ایمنی هومورال در مقاومت به بروسلوزیس، توانایی آنتی‌بادی در حفظ کردن میزبان در مقابل عفونت بروسلا بحث برانگیز به نظر می‌رسد. برای مثال، بروسلا آبورتوس RB۵۱ فاقد پلی ساکارید O، هنوز هم بهترین حفاظت را به عنوان سوش واکسن در میزبان ایجاد می‌کند که این امر بیاگر آن است که حفاظت سیستم ایمنی بدون آنتی‌بادی علیه پلی ساکارید O امکان پذیر است (۵۷).

همچنین در بروسلوزیس گاوی، غلظت بالای IgG طی عفونت فعال، از لیز باکتری خارج سلولی به واسطه‌ی کمپلمان جلوگیری می‌کند و باعث

افزایش بیگانه‌خواری باکتریایی و در نتیجه پنهان شدن باکتری در داخل سلول و ایجاد بیماری بلند مدت می‌شود (۵۸).

د- سایتوکین‌ها

سایتوکین‌ها، پلی پپتیدهایی هستند که در پاسخ به میکروب‌ها و سایر آنتی‌ژن‌ها تولید می‌شوند و واسطه‌ی تنظیم واکنش‌های ایمنی و التهابی هستند. سیتوکاین‌ها دو نقش ضروری در واکنش‌های ایمنی بازی می‌کنند: تحریک سیستم ایمنی ذاتی و اکتسابی و نیز هدایت سلول‌های سیستم ایمنی در واکنش‌ها.

سایتوکین‌هایی که به عنوان بازیگران کلیدی در بروسلوزیس نقش بازی می‌کنند، شامل اینترلوکین ۱۲، IFN-γ و TNF-α هستند. اینترلوکین ۱۲ سایتوکین کلیدی تولید شده به وسیله‌ی سلول‌های B و ماکروفاژها هستند و منجر به واکنش‌های ایمنی Th۱ در میزبان می‌شود که سرانجام با ترشح IFN-γ از سلول‌های T ادامه می‌یابد. اهمیت اینترلوکین ۱۲ در بروسلوزیس به خوبی توصیف شده است (۵۹). با این وجود، مکانیسم تحریک اینترلوکین ۱۲ تشریح نگردیده است. سلول‌های T از نوع Th۱، IFN-γ را تولید می‌کنند که عملکرد باکتری‌کشی ماکروفاژهای میزبان بروسلا را فعال‌تر می‌کند. این عمل بیگانه‌خواری می‌تواند به وسیله‌ی اضافه کردن TNF-α تشدید شود (۶۰).

در واقع، بروسلا سویس زنده می‌تواند از تولید TNF-α در ماکروفاژهای انسانی جلوگیری کند که این نشان دهنده‌ی استراتژی دیگری از بروسلا به منظور بقای داخل سلولی است (۶۱). افزایش در سطح اینترلوکین ۶ در سرم انسان‌های آلوده شده با بروسلا و موش‌های آلوده شده با آنتی‌ژن‌های بروسلایی دیده شده است (۶۲). در مطالعه‌ای بر نقش اینترلوکین ۱۷ نیز در حفاظت ایجاد شده در واکسیناسیون خوراکی با RB۵۱ اشاره شده است؛ اما مطالعات بیشتری به منظور شناسایی اهمیت این سایتوکین که از سلول‌های Th۱۷ ترشح می‌شود، لازم به نظر می‌رسد (۶۳).

گذشته از این، اهمیت اینترلوکین ۱ و G-CSF (Granulocyte colony-stimulatingfactor) نیز در ایجاد فعالیت باکتری‌کشی علیه بروسلا نشان داده شده است (۶۴).

واکسن

الف- واکسن‌های زنده‌ی ضعیف شده

واکسن زنده‌ی ضعیف شده‌ی بروسلا آبورتوس S۱۹ که به طور ذاتی سویه‌ای موتان است، در سال ۱۹۲۳ کشف شد. این سویه دارای بخشی حذف شده (۷۰۲ bp) در ژن کد کننده‌ی پروتئین کاتالیز کننده‌ی اریترول است که یک خصوصیت حساسیت به اریترول به این سویه می‌دهد (۶۵). S۱۹ به طور گسترده‌ای برای جلوگیری از بروسلوزیس برای بیش از ۵۰ سال مورد استفاده قرار گرفته است. اما به دلیل مشکلاتی از قبیل تحریک سقط جنین در حیوانات حامله‌ی دریافت کننده‌ی S۱۹، تحریک تولید آنتی‌بادی‌هایی که در تشخیص، مشکل ایجاد می‌کند و بیماری‌زا بودن در انسان، استفاده از این واکسن محدود شده است (۶۶).

امروزه به دلیل استفاده‌ی بیشتر از واکسن RB۵۱، استفاده از S۱۹ روز به روز محدودتر می‌شود. با وجود این موضوع، این واکسن امروزه در کشورهایی مانند هند، ایران و آرژانتین مورد استفاده قرار می‌گیرد (۶۷).

در سال ۱۹۹۶ به دلیل مشکلات حاصل از کاربرد S۱۹، بروسلا آبورتوس RB۵۱ به عنوان جایگزینی مؤثر برای S۱۹ مورد توجه قرار گرفت. سویه‌ی موتان خشن حاصل از سویه‌ی صاف بروسلا آبورتوس ۲۳۰۸ می‌باشد. بر خلاف S۱۹، RB۵۱ واکنش‌های آنتی‌بادی‌های مداخله کننده در تشخیص ضد LPS را بر نمی انگیزد و این امر، باعث به کارگیری روش‌های مرسوم سرولوژیکی برای تشخیص بروسلوزیس در گاو شده است (۶۸). اما نشان داده شده است که امکان سقط در میان گوسفندان ایمن شده با این واکسن وقتی با بروسلا ملی تنسیس آلوده شدند، وجود دارد (۶۹).

سویه‌ی بروسلا ملی تنسیس Rev.۱ ابتدا از بروسلا ملی تنسیس ۶۰۵۶ در سال ۱۹۵۷ به وسیله‌ی پاساژهای متوالی بر روی محیط استرپتومایسین به دست آمد. تزریق این واکسن به بز، ایمنی بسیار خوبی در بز علیه بروسلوزیس ایجاد می‌کند؛ اما مشکلاتی که برای S۱۹ ذکر شد، برای این واکسن هم وجود دارد. همچنین، این واکسن به استرپتومایسین مقاوم است و استفاده از آنتی‌بیوتیک برای درمان بروسلوزیس را با محدودیت روبه‌رو می‌کند (۶۷). از این رو، درکشورهایی که به نوعی بروسلوزیس در میان حیوانات ریشه کن شده است، استفاده از این واکسن ممنوع اعلام گردیده است (۷۰).

سویه‌های موتان جدیدی از بروسلا آبورتوس و بروسلا ملی تنسیس امروزه به عنوان واکسن زنده‌ی تخفیف حدت یافته معرفی شده است (۷۳-۷۱، ۶۷-۶۶)؛ اما کارهای زیادی باید صورت گیرد که این سویه‌های موتان جدید به عنوان واکسنی مؤثر و بی‌خطر برای حیوانات معرفی شوند.

ب- واکسن‌های تحت واحد

مقایسه‌ی واکسن‌های تحت واحد (Subunit) با واکسن‌های DNAای و واکسن حاصل از بروسلای تخفیف حدت یافته (که همه اجزای ایمونوژنیک را دارا است)، نشان می‌دهد که واکسن‌های تخفیف حدت یافته در حفاظت علیه عفونت نقش کاملی بازی می‌کند. از این رو، این نوع از واکسن بسیار مؤثر شناخته شده است؛ اما این نوع واکسن‌ها هم مشکلات خاص خود را دارند که می‌توان به مواردی مانند بیماری‌زا بودن در انسان، مقاومت به آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین در بعضی سویه‌ها، تحریک سقط جنین در حیوانات باردار در هنگام تزریق و امکان ایجاد موتاسیون برگشت پذیر و یافتن قدرت بیماری‌زایی اشاره کرد (۷۷-۷۴). از این رو، تلاش برای یافتن راه حل‌های جایگزین مانند واکسن‌های DNAای و زیر واحد، منطقی به نظر می‌رسد.

امروزه بسیاری از آنتی‌ژن‌هایی که توسط سلول‌های B و T شناسایی می‌شوند، مشخص شده‌اند. آنتی‌ژن‌های قابل شناسایی به وسیله‌ی سلول‌های B (جدول ۱) به عنوان نشانگرهای شناسایی و تشخیص مورد استفاده قرار گرفته‌اند.

آنتی‌بادی‌های تولید شده علیه این آنتی‌ژن‌ها، در اپسونیزاسیون در میزبان هم نقش دارند. آنتی‌ژن‌های قابل شناسایی به وسیله‌ی سلول‌های T (جدول ۲) که به وسیله‌ی واکنش تکثیر سلول‌های لنفوسیت مشخص شده‌اند، آنتی‌ژن‌های مختص سلول‌های $T\ ۴^{+}$ CD هستند که بر روی گیرنده‌های سلول T (TCR یا T cells receptor) از طریق MHC کلاس ۲ عرضه می‌شوند.

جدول ۱. آنتی‌ژن‌های مورد شناسایی توسط سلول‌های B

آنتی‌ژن	عملکرد	گونه	حفاظت	منبع
Omp۱۹	پروتئین غشای بیرونی	Brucella abortus	مشخص‌نشده	(۸۱)
Omp۲۵	پروتئین غشای بیرونی	Brucella ovis	دارد	(۸۲)
Omp۲۸	پروتئین غشای بیرونی	Brucella melitensis	مشخص‌نشده	(۸۳)
Omp۳۱	پروتئین غشای بیرونی	Brucella ovis	دارد	(۸۴)
Omp۸۹	پروتئین غشای بیرونی	Brucella abortus	مشخص‌نشده	(۸۵)
CP۲۴	فاکتور آزاد کننده‌ی ریبوزوم	Brucella melitensis	مشخص‌نشده	(۸۶)
HtrA	پروتئین شوک حرارتی	Brucella abortus	مشخص‌نشده	(۸۷)
۱۸-kDa protein	لومازین سنتتاز	Brucella melitensis	مشخص‌نشده	(۸۸)
BCSP۳۱	نامشخص	Brucella melitensis	مشخص‌نشده	(۸۹)
DnaK	پروتئین شوک حرارتی	Brucella abortus	همراه ادجوانت فروند دارد	(۱)
BP۲۶	پروتئین سیتوپلاسمی	Brucella melitensis	مشخص‌نشده	(۹۱)
۱۷-kDa protein	نامشخص	Brucella melitensis	مشخص‌نشده	(۹۲)
۲۲/۹-kDa protein	نامشخص	Brucella abortus	دارد	(۹۳)
۳۲/۲-kDa protein	نامشخص	Brucella abortus	مشخص‌نشده	(۹۳)
۲۰-kDa protein	نامشخص	Brucella melitensis	مشخص‌نشده	(۹۴)
Dihydrolipoamide succinyltransferase	پروتئین سیتوپلاسمی	Brucella ovis	مشخص‌نشده	(۹۰)
۳۱-kDa protein	نامشخص	Brucella ovis	مشخص‌نشده	(۹۰)
Malate dehydrogenase	پروتئین سیتوپلاسمی	Brucella ovis	مشخص‌نشده	(۹۰)
Succinyl coenzyme A	پروتئین سیتوپلاسمی	Brucella ovis	مشخص‌نشده	(۹۰)
ABCa-type transporter	پروتئین سیتوپلاسمی	Brucella ovis	مشخص‌نشده	(۹۰)
Leu/Ile/Val-bindingprotein precursor	پروتئین سیتوپلاسمی	Brucella ovis	مشخص‌نشده	(۹۰)
ClpP	پروتئین شوک حرارتی	Brucella ovis	مشخص‌نشده	(۹۰)
NikA	پروتئین سیتوپلاسمی	Brucella ovis	مشخص‌نشده	(۹۰)

این سلول‌های $TCD4^+$ فعال شده، میزان قابل ملاحظه‌ای از IFN-γ را تولید می‌کنند. با این وجود، نشان داده شده است که آنتی‌ژن‌هایی که بر روی سلول‌های MHC کلاس ۱ عرضه می‌شوند نیز با سلول‌های سیستم ایمنی واکنش می‌دهند (۷۸، ۵۱).

نتیجه‌گیری

با توجه به شیوع اندمیک بیماری بروسلوز در مناطق خاورمیانه به خصوص ایران و به دلیل عواقب اقتصادی که در صنعت دامپروری ایجاد می‌کند و همچنین بیماری سختی که در انسان به وجود می‌آورد، نیازمند توجه بسیاری است. درک ما از چگونگی بیماری‌زایی باکتری مولد بروسلوز می‌تواند قدم اول در حذف این بیماری می‌باشد. امروزه روش‌های زیادی به منظور شناسایی عوامل دخیل در بیماری‌زایی بروسلا استفاده می‌شود که از جمله‌ی آن می‌توان ایجاد موتاسیون‌های خاص در ژن‌های خاص و بررسی میزان بیماری‌زایی این سویه‌های موتانت نسبت به سویه‌های وحشی و همچنین استفاده از روش‌هایی بر مبنای پروتئومیکس را نام برد. در روش اخیر، واکنش باکتری

جدول ۲. آنتی‌ژن‌های مورد شناسایی توسط سلول‌های T

آنتی‌ژن	عملکرد	گونه	حفاظت	منبع
P۳۹	پروتئین پری‌پلاسمی	Brucella melitensis	همراه CpG دارد	(۹۵)
Bacterioferritin	پروتئین متصل‌شونده به آهن	Brucella melitensis	همراه CpG دارد	(۹۶)
GroEL	پروتئین شوک حرارتی	Brucella abortus	مشخص‌نشده	(۹۷)
GroES	پروتئین شوک حرارتی	Brucella abortus	مشخص‌نشده	(۹۷)
YajC	پروتئین سیتوپلاسمی	Brucella abortus	مشخص‌نشده	(۹۸)
UvrA	پروتئین سیتوپلاسمی	Brucella abortus	مشخص‌نشده	(۹۷)
Lv/L۱۲	پروتئین سیتوپلاسمی	Brucella abortus	همراه ادجوانت فروند دارد	(۹۷)
BA۱۴K	نامشخص	Brucella abortus	مشخص‌نشده	(۹۹)
SOD	پروتئین سیتوپلاسمی	Brucella abortus	دارد	(۱۰۰)
۳۱ kDa	نامشخص	Brucella abortus	مشخص‌نشده	(۱۰۱)
BLS	پروتئین سیتوپلاسمایی	Brucella melitensis	همراه ادجوانت فروند دارد	(۱۰۲-۱۰۳)
Bp۲۶	نامشخص	Brucella melitensis	همراه ادجوانت فروند دارد	(۱۰۴)
DnaK	چاپرون	Brucella abortus	همراه ادجوانت فروند دارد	(۱۰۵)
SurA	پروتئین سیتوپلاسمی	Brucella abortus	همراه ادجوانت فروند دارد	(۱۰۵)
Tig	پروتئین سیتوپلاسمی	Brucella melitensis	همراه ادجوانت فروند دارد	(۱۰۴)
AdoHcyase	پروتئین سیتوپلاسمی	Brucella melitensis	همراه ادجوانت فروند دارد	(۸۰)
RS-α	پروتئین سیتوپلاسمی	Brucella melitensis	همراه ادجوانت فروند دارد	(۱۰۶)
LS-۲	پروتئین سیتوپلاسمی	Brucella melitensis	همراه ادجوانت فروند دارد	(۱۰۶)
HspA	پروتئین شوک حرارتی	Brucella melitensis	همراه ادجوانت فروند دارد	(۱۰۷)
ribosomal protein L۹	پروتئین‌های ریبوزومی	Brucella abortus	همراه ادجوانت فروند دارد	(۱۰۸)
BLSOmp۳۱	پروتئین کایمریک	Brucella melitensis	همراه ادجوانت فروند دارد	(۱۰۹)
FlgJ and FliN	پروتئین فلاژلی	Brucella abortus	همراه ادجوانت فروند دارد	(۱۱۰)
CobB	پروتئین حرارتی	Brucella abortus	همراه ادجوانت فروند دارد	(۱۱۱)
AsnC	پروتئین حرارتی	Brucella abortus	همراه ادجوانت فروند دارد	(۱۱۱)
DnaK	چاپرون	Brucella melitensis	همراه ادجوانت فروند دارد	(۱۱۲)

در موقعی که در شرایط داخل سلول قرار دارد، مورد بررسی قرار می‌گیرد و پروتئین‌ها و آنزیم‌هایی که در این شرایط ترشح می‌شوند، شناسایی می‌گردند که می‌تواند در درک ما از چگونگی بیماری‌زایی این باکتری بسیار کمک کننده باشد. روش‌های مورد استفاده در پروتئومیکس متنوع است؛ اما دو روشی که امروزه بسیار مورد استفاده قرار گرفته است، شامل روش الکتروفورز دو بعدی و بیان تمام قالب‌های خواندن باز (Open reading frame) است که با استفاده از اطلاعات به دست آمده از تعیین توالی تمام ژنوم بروسلا امکان پذیر شده است (۸۰-۷۹).

واکسیناسون، دومین راهبردی است که می‌تواند در ریشه‌کنی بروسلا بسیار مؤثر باشد. سوش‌های زنده‌ی تخفیف حدت یافته از دو باکتری بروسلا ملی تنسیس و بروسلا آبورتوس بسیار مورد استفاده قرار گرفته است؛ اما بر خلاف کارایی خوب، مشکلاتی برای

آن‌ها توصیف شده است. از جمله‌ی این مشکلات، عدم امکان استفاده از این واکسن‌ها در انسان و همچنین حیوان باردار است. تداخل در تشخیص به علت تحریک ترشح آنتی‌بادی‌های تداخل کننده در آزمایش‌های سرولوژی تشخیص بروسلوز نیز از مشکلات این واکسن‌ها بر شمرده شده است.

از این رو، تلاش‌هایی به منظور شناسایی آنتی‌ژن‌های پروتئینی ایمنی‌زا به منظور ساخت واکسن‌های تحت واحد در حال انجام است که در بالا به آن‌ها اشاره شده است. ناگفته پیدا است که شناسایی آنتی‌ژن‌های مؤثرتر، بدون فهم کامل ما از بیماری‌زایی بروسلا به دست نخواهد آمد. از این رو، تلاش‌های بیشتری باید در راستای شناختن عوامل مؤثر در بیماری‌زایی بروسلا با استفاده از روش‌های میکروب‌شناسی، بیوتکنولوژی و ایمنی‌شناسی صورت گیرد.

References

1. Van der Henst C, de BM, Zorreguieta A, Letesson JJ, De B, X. The Brucella pathogens are polarized bacteria. Microbes Infect 2013; 15(14-15): 998-1004.
2. Pappas G, Akritidis N, Bosilkovski M, Tsianos E. Brucellosis. N Engl J Med 2005; 352(22): 2325-36.
3. Olsen SC. Recent developments in livestock and wildlife brucellosis vaccination. Rev Sci Tech 2013; 32(1): 207-17.
4. Avila-Calderon ED, Lopez-Merino A, Sriranganathan N, Boyle SM, Contreras-Rodriguez A. A history of the development of Brucella vaccines. Biomed Res Int 2013; 2013: 743509.
5. Seleem MN, Boyle SM, Sriranganathan N. Brucella: a pathogen without classic virulence genes. Vet Microbiol 2008; 129(1-2): 1-14.
6. Ko J, Splitter GA. Molecular host-pathogen interaction in brucellosis: current understanding and future approaches to vaccine development for mice and humans. Clin Microbiol Rev 2003; 16(1): 65-78.
7. Corbel MJ. Brucellosis: an overview. Emerg Infect Dis 1997; 3(2): 213-21.
8. Robinson-Dunn B. The microbiology laboratory's role in response to bioterrorism. Arch Pathol Lab Med 2002; 126(3): 291-4.
9. Gorvel JP, Moreno E. Brucella intracellular life: from invasion to intracellular replication. Vet Microbiol 2002; 90(1-4): 281-97.
10. Naroeni A, Porte F. Role of cholesterol and the ganglioside GM(1) in entry and short-term survival of Brucella suis in murine macrophages. Infect Immun 2002; 70(3): 1640-4.
11. Watarai M, Makino S, Fujii Y, Okamoto K, Shirahata T. Modulation of Brucella-induced macropinocytosis by lipid rafts mediates intracellular replication. Cell Microbiol 2002; 4(6): 341-55.
12. Fontes P, Alvarez-Martinez MT, Gross A, Carnaud C, Kohler S, Liautard JP. Absence of evidence for the participation of the macrophage cellular prion protein in infection with Brucella suis. Infect Immun 2005; 73(10): 6229-36.
13. Sadeghifard N, Aslani mm, Ghasemi A. Comparison of different laboratory methods for diagnosis of Helicobacter pylori. Journal of Biological Sciences 2006; 6(6): 1146-9.
14. Kim S, Watarai M, Makino S, Shirahata T. Membrane sorting during swimming internalization of Brucella is required for phagosome trafficking decisions. Microb Pathog 2002; 33(5): 225-37.
15. Shirazi MH, Sadeghifard N, Ranjbar R, Daneshyar E, Ghasemi A. Incidence of asymptomatic bacteriuria during pregnancy. Pak J Biol Sci 2006; 9(1): 151-4.
16. Chaves-Olarte E, Guzman-Verri C, Meresse S, Desjardins M, Pizarro-Cerda J, Badilla J, et al. Activation of Rho and Rab GTPases dissociates Brucella abortus internalization from intracellular trafficking. Cell Microbiol 2002; 4(10): 663-76.
17. Celli J, de CC, Franchini DM, Pizarro-Cerda J, Moreno E, Gorvel JP. Brucella evades macrophage killing via VirB-dependent sustained interactions with the endoplasmic reticulum. J Exp Med 2003; 198(4): 545-56.
18. Porte F, Naroeni A, Ouahrani-Bettache S, Liautard JP. Role of the Brucella suis lipopolysaccharide O antigen in phagosomal genesis and in inhibition of phagosome-lysosome fusion in murine macrophages. Infect Immun 2003; 71(3): 1481-90.

19. Arellano-Reynoso B, Lapaque N, Salcedo S, Briones G, Ciocchini AE, Ugalde R, et al. Cyclic beta-1,2-glucan is a Brucella virulence factor required for intracellular survival. Nat Immunol 2005; 6(6): 618-25.
20. Bohin JP. Osmoregulated periplasmic glucans in Proteobacteria. FEMS Microbiol Lett 2000; 186(1): 11-9.
21. Bhagwat AA, Mithofer A, Pfeffer PE, Kraus C, Spickers N, Hotchkiss A, et al. Further studies of the role of cyclic beta-glucans in symbiosis. An NdvC mutant of Bradyrhizobium japonicum synthesizes cyclodecakis-(1-->3)-beta-glucosyl. Plant Physiol 1999; 119(3): 1057-64.
22. Briones G, Inon d, I, Roset M, Vigliocco A, Paulo PS, Ugalde RA. Brucella abortus cyclic beta-1,2-glucan mutants have reduced virulence in mice and are defective in intracellular replication in HeLa cells. Infect Immun 2001; 69(7): 4528-35.
23. Dermine JF, Duclos S, Garin J, St-Louis F, Rea S, Parton RG, et al. Flotillin-1-enriched lipid raft domains accumulate on maturing phagosomes. J Biol Chem 2001; 276(21): 18507-12.
24. Haag AF, Myka KK, Arnold MF, Caro-Hernandez P, Ferguson GP. Importance of Lipopolysaccharide and Cyclic beta-1,2-Glucans in Brucella-Mammalian Infections. Int J Microbiol 2010; 2010: 124509.
25. Pizarro-Cerda J, Meresse S, Parton RG, van der Goot G, Sola-Landa A, Lopez-Goni I, et al. Brucella abortus transits through the autophagic pathway and replicates in the endoplasmic reticulum of nonprofessional phagocytes. Infect Immun 1998; 66(12): 5711-24.
26. Porte F, Liautard JP, Kohler S. Early acidification of phagosomes containing Brucella suis is essential for intracellular survival in murine macrophages. Infect Immun 1999; 67(8): 4041-7.
27. Boschiroli ML, Ouahrani-Bettache S, Foulongne V, Michaux-Charachon S, Bourg G, Allardet-Servent A, et al. The Brucella suis virB operon is induced intracellularly in macrophages. Proc Natl Acad Sci U S A 2002; 99(3): 1544-9.
28. Sieira R, Comerci DJ, Sanchez DO, Ugalde RA. A homologue of an operon required for DNA transfer in Agrobacterium is required in Brucella abortus for virulence and intracellular multiplication. J Bacteriol 2000; 182(17): 4849-55.
29. Comerci DJ, Martinez-Lorenzo MJ, Sieira R, Gorvel JP, Ugalde RA. Essential role of the VirB machinery in the maturation of the Brucella abortus-containing vacuole. Cell Microbiol 2001; 3(3): 159-68.
30. Celli J. Surviving inside a macrophage: the many ways of Brucella. Res Microbiol 2006; 157(2): 93-8.
31. Ghasemi A, Salari MH, Zarnani AH, Pourmand MR, Ahmadi H, Shirazi MH, et al. Immunogenicity assessment of Brucella mellitensis HSP and TF proteins by immunized rabbit serum. Iran J Allergy Asthma Immunol 2013; 12(2): 192-4.
32. Baldwin CL, Winter AJ. Macrophages and Brucella. Immunol Ser 1994; 60: 363-80.
33. Lin J, Ficht TA. Protein synthesis in Brucella abortus induced during macrophage infection. Infect Immun 1995; 63(4): 1409-14.
34. Kohler S, Teyssier J, Cloeckaert A, Rouot B, Liautard JP. Participation of the molecular chaperone DnaK in intracellular growth of Brucella suis within U937-derived phagocytes. Mol Microbiol 1996; 20(4): 701-12.
35. Edmonds M, Booth N, Hagius S, Walker J, Enright F, Roop RM, et al. Attenuation and immunogenicity of a Brucella abortus htrA cycL double mutant in cattle. Vet Microbiol 2000; 76(1): 81-90.
36. Muffler A, Fischer D, Hengge-Aronis R. The RNA-binding protein HF-I, known as a host factor for phage Qbeta RNA replication, is essential for rpoS translation in Escherichia coli. Genes Dev 1996; 10(9): 1143-51.
37. Robertson GT, Roop RM, Jr. The Brucella abortus host factor I (HF-I) protein contributes to stress resistance during stationary phase and is a major determinant of virulence in mice. Mol Microbiol 1999; 34(4): 690-700.
38. Ghasemi A, Salari MH, Pourmand MR, Zarnani AH, Ahmadi H, Shirazi MH, et al. Optimization and efficient purification in production of Brucella melitensis recombinant HSP A and TF proteins with low endotoxin contents. Jundishapur J Microbiol 2013; 6(7): e6875.
39. Corbeil LB, Blau K, Inzana TJ, Nielsen KH, Jacobson RH, Corbeil RR, et al. Killing of Brucella abortus by bovine serum. Infect Immun 1988; 56(12): 3251-61.
40. Hoffmann EM, Houle JJ. Failure of Brucella abortus lipopolysaccharide (LPS) to activate the alternative pathway of complement. Vet Immunol Immunopathol 1983; 5(1): 65-76.
41. Fernandez-Prada CM, Nikolich M, Vemulapalli R, Sriranganathan N, Boyle SM, Schurig GG, et al. Deletion of wboA enhances activation of the lectin pathway of complement in Brucella abortus and Brucella melitensis. Infect Immun 2001; 69(7): 4407-16.
42. Young EJ, Borchert M, Kretzer FL, Musher DM. Phagocytosis and killing of Brucella by

human polymorphonuclear leukocytes. J Infect Dis 1985; 151(4): 682-90.
43. Riley LK, Robertson DC. Ingestion and intracellular survival of Brucella abortus in human and bovine polymorphonuclear leukocytes. Infect Immun 1984; 46(1): 224-30.
44. Salmeron I, Rodriguez-Zapata M, Salmeron O, Manzano L, Vaquer S, Alvarez-Mon M. Impaired activity of natural killer cells in patients with acute brucellosis. Clin Infect Dis 1992; 15(5): 764-70.
45. Fernandes DM, Benson R, Baldwin CL. Lack of a role for natural killer cells in early control of Brucella abortus 2308 infections in mice. Infect Immun 1995; 63(10): 4029-33.
46. Gay B, Sanchez-Teff S, Caravano R. Ultrastructural localization of NADPH-oxidase activity in murine peritoneal macrophages during phagocytosis of Brucella. Correlation with the production of superoxide anions. Virchows Arch B Cell Pathol Incl Mol Pathol 1984; 45(2): 147-55.
47. Jiang X, Baldwin CL. Iron augments macrophage-mediated killing of Brucella abortus alone and in conjunction with interferon-gamma. Cell Immunol 1993; 148(2): 397-407.
48. Dawidowicz K, Allanore Y, Guedj M, Pierlot C, Bombardieri S, Balsa A, et al. The interferon regulatory factor 5 gene confers susceptibility to rheumatoid arthritis and influences its erosive phenotype. Ann Rheum Dis 2011; 70(1): 117-21.
49. Araya LN, Elzer PH, Rowe GE, Enright FM, Winter AJ. Temporal development of protective cell-mediated and humoral immunity in BALB/c mice infected with Brucella abortus. J Immunol 1989; 143(10): 3330-7.
50. Murphy EA, Sathiyaseelan J, Parent MA, Zou B, Baldwin CL. Interferon-gamma is crucial for surviving a Brucella abortus infection in both resistant C57BL/6 and susceptible BALB/c mice. Immunology 2001; 103(4): 511-8.
51. Oliveira SC, Splitter GA. CD8+ type 1 CD44hi CD45 RBlo T lymphocytes control intracellular Brucella abortus infection as demonstrated in major histocompatibility complex class I- and class II-deficient mice. Eur J Immunol 1995; 25(9): 2551-7.
52. Ottones F, Liautard J, Gross A, Rabenoelina F, Liautard JP, Favero J. Activation of human Vgamma9Vdelta2 T cells by a Brucella suis non-peptidic fraction impairs bacterial intracellular multiplication in monocytic infected cells. Immunology 2000; 100(2): 252-8.
53. Ottones F, Dornand J, Naroeni A, Liautard JP, Favero J. V gamma 9V delta 2 T cells impair intracellular multiplication of Brucella suis in autologous monocytes through soluble factor release and contact-dependent cytotoxic effect. J Immunol 2000; 165(12): 7133-9.
54. Montaraz JA, Winter AJ, Hunter DM, Sowa BA, Wu AM, Adams LG. Protection against Brucella abortus in mice with O-polysaccharide-specific monoclonal antibodies. Infect Immun 1986; 51(3): 961-3.
55. Phillips M, Deyoe BL, Canning PC. Protection of mice against Brucella abortus infection by inoculation with monoclonal antibodies recognizing Brucella O-antigen. Am J Vet Res 1989; 50(12): 2158-61.
56. Elzer PH, Jacobson RH, Nielsen KH, Douglas JT, Winter AJ. BALB/c mice infected with Brucella abortus express protracted polyclonal responses of both IgG2a and IgG3 isotypes. Immunol Lett 1994; 42(3): 145-50.
57. Schurig GG, Roop RM, Bagchi T, Boyle S, Buhrman D, Sriranganathan N. Biological properties of RB51; a stable rough strain of Brucella abortus. Vet Microbiol 1991; 28(2): 171-88.
58. Hoffmann EM, Houle JJ. Contradictory roles for antibody and complement in the interaction of Brucella abortus with its host. Crit Rev Microbiol 1995; 21(3): 153-63.
59. Zhan Y, Cheers C. Endogenous interleukin-12 is involved in resistance to Brucella abortus infection. Infect Immun 1995; 63(4): 1387-90.
60. Zhan Y, Liu Z, Cheers C. Tumor necrosis factor alpha and interleukin-12 contribute to resistance to the intracellular bacterium Brucella abortus by different mechanisms. Infect Immun 1996; 64(7): 2782-6.
61. Caron E, Gross A, Liautard JP, Dornand J. Brucella species release a specific, protease-sensitive, inhibitor of TNF-alpha expression, active on human macrophage-like cells. J Immunol 1996; 156(8): 2885-93.
62. Zhan Y, Kelso A, Cheers C. Cytokine production in the murine response to brucella infection or immunization with antigenic extracts. Immunology 1993; 80(3): 458-64.
63. Clapp B, Skyberg JA, Yang X, Thornburg T, Walters N, Pascual DW. Protective live oral brucellosis vaccines stimulate Th1 and th17 cell responses. Infect Immun 2011; 79(10): 4165-74.
64. Doyle AG, Halliday WJ, Barnett CJ, Dunn TL, Hume DA. Effect of recombinant human macrophage colony-stimulating factor 1 on immunopathology of experimental brucellosis in mice. Infect Immun 1992; 60(4): 1465-72.
65. Sangari FJ, Garcia-Lobo JM, Aguero J. The Brucella abortus vaccine strain B19 carries a deletion in the erythritol catabolic genes. FEMS

Microbiol Lett 1994; 121(3): 337-42.
66. Moreno E. Retrospective and prospective perspectives on zoonotic brucellosis. Front Microbiol 2014; 5: 213.
67. Yang X, Skyberg J, Cao L, Clapp B, Thornburg T, Pascual D. Progress in Brucella vaccine development. Front Biol 2013; 8(1): 60-77.
68. Ashford DA, di PJ, Lingappa J, Woods C, Noll H, Neville B, et al. Adverse events in humans associated with accidental exposure to the livestock brucellosis vaccine RB51. Vaccine 2004; 22(25-26): 3435-9.
69. el Idrissi AH, Benkirane A, el MM, Bouslikhane M, Berrada J, Zerouali A. Comparison of the efficacy of Brucella abortus strain RB51 and Brucella melitensis Rev. 1 live vaccines against experimental infection with Brucella melitensis in pregnant ewes. Rev Sci Tech 2001; 20(3): 741-7.
70. Ghasemi A, Salari MH, Zarnani AH, Pourmand MR, Ahmadi H, Mirshafiey A, et al. Immune reactivity of Brucella melitensis-vaccinated rabbit serum with recombinant Omp31 and DnaK proteins. Iran J Microbiol 2013; 5(1): 19-23.
71. He Y. Analyses of Brucella pathogenesis, host immunity, and vaccine targets using systems biology and bioinformatics. Front Cell Infect Microbiol 2012; 2: 2.
72. Wang Z, Niu J, Wang S, Lv Y, Wu Q. In vivo differences in the virulence, pathogenicity, and induced protective immunity of wboA mutants from genetically different parent Brucella spp. Clin Vaccine Immunol 2013; 20(2): 174-80.
73. Todd TE, Tibi O, Lin Y, Sayers S, Bronner DN, Xiang Z, et al. Meta-analysis of variables affecting mouse protection efficacy of whole organism Brucella vaccines and vaccine candidates. BMC Bioinformatics 2013; 14(Suppl 6): S3.
74. Ghasemi A, Ranjbar R, Amani J. In silico analysis of chimeric TF, Omp31 and BP26 fragments of Brucella melitensis for development of a multi subunit vaccine candidate. Iran J Basic Med Sci 2014; 17(3): 172-80.
75. Cannella AP, Tsolis RM, Liang L, Felgner PL, Saito M, Sette A, et al. Antigen-specific acquired immunity in human brucellosis: implications for diagnosis, prognosis, and vaccine development. Front Cell Infect Microbiol 2012; 2: 1.
76. Jain S, Afley P, Kumar S. Immunological responses to recombinant cysteine synthase A of Brucella abortus in BALB/c mice. World J Microbiol Biotechnol 2013; 29(5): 907-13.
77. Cassataro J, Velikovsky CA, de la Barrera S, Estein SM, Bruno L, Bowden R, et al. A DNA vaccine coding for the Brucella outer membrane protein 31 confers protection against B. melitensis and B. ovis infection by eliciting a specific cytotoxic response. Infect Immun 2005; 73(10): 6537-46.
78. Wang Y, Chen Z, Qiu Y, Ke Y, Xu J, Yuan X, et al. Identification of Brucella abortus virulence proteins that modulate the host immune response. Bioengineered 2012; 3(5): 303-5.
79. Ding F, Lee KJ, Vahedi-Faridi A, Huang T, Xu XH. Design and probing of efflux functions of EGFP fused ABC membrane transporters in live cells using fluorescence spectroscopy. Anal Bioanal Chem 2011; 400(1): 223-35.
80. Yang Y, Yin J, Guo D, Lang X, Wang X. Immunization of mice with recombinant S-adenosyl-L-homocysteine hydrolase protein confers protection against Brucella melitensis infection. FEMS Immunol Med Microbiol 2011; 61(2): 159-67.
81. Kovach ME, Elzer PH, Robertson GT, Chirhart-Gilleland RL, Christensen MA, Peterson KM, et al. Cloning and nucleotide sequence analysis of a Brucella abortus gene encoding an 18 kDa immunoreactive protein. Microb Pathog 1997; 22(4): 241-6.
82. Bowden RA, Cloeckaert A, Zygmunt MS, Dubray G. Evaluation of immunogenicity and protective activity in BALB/c mice of the 25-kDa major outer-membrane protein of Brucella melitensis (Omp25) expressed in Escherichia coli. J Med Microbiol 1998; 47(1): 39-48.
83. Lindler LE, Hadfield TL, Tall BD, Snellings NJ, Rubin FA, Van De Verg LL, et al. Cloning of a Brucella melitensis group 3 antigen gene encoding Omp28, a protein recognized by the humoral immune response during human brucellosis. Infect Immun 1996; 64(7): 2490-9.
84. Kittelberger R, Hilbink F, Hansen MF, Ross GP, de Lisle GW, Cloeckaert A, et al. Identification and characterization of immunodominant antigens during the course of infection with Brucella ovis. J Vet Diagn Invest 1995; 7(2): 210-8.
85. Limet JN, Cloeckaert A, Bezard G, Van BJ, Dubray G. Antibody response to the 89-kDa outer membrane protein of Brucella in bovine brucellosis. J Med Microbiol 1993; 39(6): 403-7.
86. Vizcaino N, Cloeckaert A, Dubray G, Zygmunt MS. Cloning, nucleotide sequence, and expression of the gene coding for a ribosome releasing factor-homologous protein of Brucella melitensis. Infect Immun 1996; 64(11): 4834-7.

87. Roop RM, Fletcher TW, Sriranganathan NM, Boyle SM, Schurig GG. Identification of an immunoreactive Brucella abortus HtrA stress response protein homolog. Infect Immun 1994; 62(3): 1000-7.
88. Baldi PC, Wanke MM, Loza ME, Monachesi N, Fossati CA. Diagnosis of canine brucellosis by detection of serum antibodies against an 18 kDa cytoplasmic protein of Brucella spp. Vet Microbiol 1997; 57(2-3): 273-81.
89. Bricker BJ, Tabatabai LB, Deyoe BL, Mayfield JE. Conservation of antigenicity in a 31-kDa Brucella protein. Vet Microbiol 1988; 18(3-4): 313-25.
90. Teixeira-Gomes AP, Cloeckaert A, Bezard G, Bowden RA, Dubray G, Zygmunt MS. Identification and characterization of Brucella ovis immunogenic proteins using two-dimensional electrophoresis and immunoblotting. Electrophoresis 1997; 18(8): 1491-7.
91. Rossetti OL, Arese AI, Boschiroli ML, Cravero SL. Cloning of Brucella abortus gene and characterization of expressed 26-kilodalton periplasmic protein: potential use for diagnosis. J Clin Microbiol 1996; 34(1): 165-9.
92. Hemmen F, Weynants V, Scarcez T, Letesson JJ, Saman E. Cloning and sequence analysis of a newly identified Brucella abortus gene and serological evaluation of the 17-kilodalton antigen that it encodes. Clin Diagn Lab Immunol 1995; 2(3): 263-7.
93. Cespedes S, Andrews E, Folch H, Onate A. Identification and partial characterisation of a new protective antigen of Brucella abortus. J Med Microbiol 2000; 49(2): 165-70.
94. Zygmunt MS, Gilbert FB, Dubray G. Purification, characterization, and seroactivity of a 20-kilodalton Brucella protein antigen. J Clin Microbiol 1992; 30(10): 2662-7.
95. Al-Mariri A. Protection of BALB/c mice against Brucella melitensis 16 M infection induced by vaccination with live Escherchia coli expression Brucella P39 protein. Vaccine 2010; 28(7): 1766-70.
96. Denoel PA, Vo TK, Weynants VE, Tibor A, Gilson D, Zygmunt MS, et al. Identification of the major T-cell antigens present in the Brucella melitensis B115 protein preparation, Brucellergene OCB. J Med Microbiol 1997; 46(9): 801-6.
97. Oliveira SC, Splitter GA. Immunization of mice with recombinant L7/L12 ribosomal protein confers protection against Brucella abortus infection. Vaccine 1996; 14(10): 959-62.
98. Vemulapalli R, Duncan AJ, Boyle SM, Sriranganathan N, Toth TE, Schurig GG. Cloning and sequencing of yajC and secD homologs of Brucella abortus and demonstration of immune responses to YajC in mice vaccinated with B. abortus RB51. Infect Immun 1998; 66(12): 5684-91.
99. Chirhart-Gilleland RL, Kovach ME, Elzer PH, Jennings SR, Roop RM. Identification and characterization of a 14-kilodalton Brucella abortus protein reactive with antibodies from naturally and experimentally infected hosts and T lymphocytes from experimentally infected BALB/c mice. Infect Immun 1998; 66(8): 4000-3.
100. Stevens MG, Tabatabai LB, Olsen SC, Cheville NF. Immune responses to superoxide dismutase and synthetic peptides of superoxide dismutase in cattle vaccinated with Brucella abortus strain 19 or RB51. Vet Microbiol 1994; 41(4): 383-9.
101. Brooks-Worrell BM, Splitter GA. Antigens of Brucella abortus S19 immunodominant for bovine lymphocytes as identified by one- and two-dimensional cellular immunoblotting. Infect Immun 1992; 60(6): 2459-64.
102. Rosas G, Fragoso G, Ainciart N, Esquivel-Guadarrama F, Santana A, Bobes RJ, et al. Brucella spp. lumazine synthase: a novel adjuvant and antigen delivery system to effectively induce oral immunity. Microbes Infect 2006; 8(5): 1277-86.
103. Sciutto E, Toledo A, Cruz C, Rosas G, Meneses G, Laplagne D, et al. Brucella spp. lumazine synthase: a novel antigen delivery system. Vaccine 2005; 23(21): 2784-90.
104. Yang X, Hudson M, Walters N, Bargatze RF, Pascual DW. Selection of protective epitopes for Brucella melitensis by DNA vaccination. Infect Immun 2005; 73(11): 7297-303.
105. Delpino MV, Estein SM, Fossati CA, Baldi PC, Cassataro J. Vaccination with Brucella recombinant DnaK and SurA proteins induces protection against Brucella abortus infection in BALB/c mice. Vaccine 2007; 25(37-38): 6721-9.
106. Yang Y, Wang L, Yin J, Wang X, Cheng S, Lang X, et al. Immunoproteomic analysis of Brucella melitensis and identification of a new immunogenic candidate protein for the development of brucellosis subunit vaccine. Mol Immunol 2011; 49(1-2): 175-84.
107. Ghasemi A, Zarnani AH, Ghoodjani A, Rezania S, Salari MH, Jeddi-Tehrani M. Identification of a new immunogenic candidate conferring protection against Brucella melitensis infection in Mice. Mol Immunol 2014; 62(1): 142-9.
108. Jain S, Afley P, Dohre SK, Saxena N, Kumar S. Evaluation of immunogenicity and protective

efficacy of a plasmid DNA vaccine encoding ribosomal protein L9 of Brucella abortus in BALB/c mice. Vaccine 2014; 32(35): 4537-42.

109. Clausse M, Diaz AG, Ghersi G, Zylberman V, Cassataro J, Giambartolomei GH, et al. The vaccine candidate BLSOmp31 protects mice against Brucella canis infection. Vaccine 2013; 31(51): 6129-35.

110. Li X, Xu J, Xie Y, Qiu Y, Fu S, Yuan X, et al. Vaccination with recombinant flagellar proteins FlgJ and FliN induce protection against Brucella abortus 544 infection in BALB/c mice. Vet Microbiol 2012; 161(1-2): 137-44.

111. Fu S, Xu J, Li X, Xie Y, Qiu Y, Du X, et al. Immunization of mice with recombinant protein CobB or AsnC confers protection against Brucella abortus infection. PLoS One 2012; 7(2): e29552.

112. Ghasemi A, Jeddi-Tehrani M, Mautner J, Salari MḤ Zarnani AH. Immunization of mice with a novel recombinant molecular chaperon confers protection against Brucella melitensis infection. Vaccine 2014. [Epub ahead of print].

Journal of Isfahan Medical School Received: 15.06.2014

Vol. 32, No. 295, 4th Week, September 2014 Accepted: 15.08.2014

Brucella: Pathogenesis, Immune System Response and Vaccine

Amir Ghasemi PhD[1], Reza Ranjbar PhD[2]

Review Article

Abstract

Bacteria of the genus Brucella are intracellular pathogens capable of surviving and replicating within macrophages of mammalian hosts and are resistance to killing in professional phagocytic cells which control survival and chronic infection. Recent advances have shed light on virulence factors and host functions involved at various stages of the Brucella intracellular life cycle. This review focuses on how this pathogen uses multiple strategies to circumvent macrophage defense mechanisms and generate an organelle permissive for replication. In addition, we discuss about host immune responses to Brucella and new strategies used to produce an efficient vaccine against Brucella infection.

Keywords: Brucella, Vaccine, Pathogenesis, Macrophage

Citation: Ghasemi A, Ranjbar R. **Brucella: Pathogenesis, Immune System Response and Vaccine.** J Isfahan Med Sch 2014; 32(295): 1197-215

1- Assistant Professor, Department of Microbiology and Immunology, School of Medicine, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran
2- Associate Professor, Molecular Biology Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran
Corresponding Author: Amir Ghasemi PhD, Email: ghasemia77@yahoo.com

errors author should verify references against the original documents. The Reference should provide the following information as stated in the presented models as follows:

a. **Article**: Rose ME, Huerbin MB, Melick J, Marion DW, Palmer AM, Schiding JK, et al. Regulation of interstitial excitatory amino acid concentrations after cortical contusion injury. Brain Res. 2002;935(1-2):40-6.
b. **Chapter in a book**: Meltzer PS, Kallioniemi A, Trent JM. Chromosome alterations in human solid tumors. In: Vogelstein B, Kinzler KW, editors. The genetic basis of human cancer. New York: McGraw-Hill; 2002. p. 93-113.
c. **Book**: Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA. Medical microbiology. 4th ed. St. Louis: Mosby; 2002.

14. **Proof Reading:** A computer prints out is sent to the corresponding author for proof reading before publication in order to avoid any mistakes. Corrections should be marked clearly and sent immediately to the Journal office.
15. **Abbreviations and symbols**: Use only standard abbreviations. **Avoid using them in the title and abstract**. The full term for which an abbreviation stands should precede its first use in the text unless it is a standard unit of measurement.
16. The **corresponding author:** Will be supplied with 1 free issue.
17. **Ethical guidelines**: Ethical considerations must be addressed in the Materials and Methods. Please state that **informed consent** was obtained from all human adult participants and from the parents or legal guardians of minors. Include the name of the appropriate institutional review board that approved the project.Indicate in the text that the maintenance and care of experimental animals complies with National Institutes of Health guidelines for the humane use of laboratory animals, or those of your Institute or agency.
18. **Conflicts of interest:** Authors must acknowledge and declare any sources of funding and potential conflicting interest, such as receiving funds or fees by, or holding stocks and shares in, an organization that may profit or lose through publication of your paper. Declaring a competing interest will not lead to automatic rejection of the paper, but we would like to be made aware of it.
19. **Page charges:** There are no charges for publication in this Journal.
20. **Copyright:** The entire contents of the Journal of Isfahan Medical School are protected under international copyrights. This Journal is for your personal noncommercial use. You may not modify copy, distribute, transmit, display, or publish any materials contained on the Journal without the prior written permission of it or the appropriate copyright owner.
21. **Peer review process:** All manuscripts are considered to be confidential. They are peer-reviewed by at least 3 anonymous reviewers selected by the Editorial Board. The corresponding author is notified as soon as possible of the editor decision to accept, reject, or require modifications. If the manuscript is completely acceptable according to the criteria set forth in these instructions, it is scheduled for the next available issue.
22. Journal has entire right for accept or reject any of received manuscripts.
23. The editors, editorial board, sponsoring organization, and publisher do not accept responsibility for the statements expressed by authors in their contributions.
24. **Communicating with the Editorial Office:** We encourage you to communicate with the JIMS Editorial Office and to check on the status of a manuscript via journal site: (http://journals.mui.ac.ir/jims) only. For more in formations you can contact with JIMS office via E-mail address (jims@med.mui.ac.ir).

INSTRUCTION TO AUTHORS

1. **Aims and Scope:** The Journal of Isfahan Medical School is the official scientific **weekly** publication of the Faculty of Medicine in Isfahan Medical Sciences University.
   This Journal accepts Original Papers, Review Articles, Case Reports, Short Communications,Educational Medical Video Clips and Letters to the Editor on all aspects of medicine.
2. Manuscript **Submission is acceptable only via Journal URL: http://journals.mui.ac.ir/jims**
   Manuscript must be accompanied by a covering letter to the Editor-in-Chief, including title and author(s) name and undertaking that it has not been published or submitted elsewhere. In case the manuscript was earlier submitted to some other Journal and was rejected, the authors must provide full information for proper analysis. Manuscript should be typed in double space of the A-4 size paper with clear margins on both sides. The text should be submitted in Microsoft Word format only. Tables as well as illustrations should be typed and drawn on a separate pages. Do not submit tables as photographs.
   The figures should be sent in a format of JPEG or GIF which will produce high quality images in the online edition of the journal. Authors must declare that it is being exclusively contributed to the Journal of Isfahan Medical School.
3. The manuscript should include: **Title page**, the **Abstract** (in both Farsi and English), **Introduction**, **Materials & Methods**, **Results**, **Discussion**, **Acknowledgement and References**.
4. **The title page:** The complete title of the manuscript, the name of all the authors with their highest qualifications, the department or institution to which they are attached, address for correspondence with telephone numbers, e-mail, and Fax number.
5. The **Abstract:** All original articles must accompany a structured abstract up to 250 words. It should be structured as **Background**, **Methods**, **Results** and **Conclusion** followed by 3 **to** 5 **Keywords**. Keywords will assist indexers in cross indexing the article as they are published with abstract. Use terms from the Medical Subject Headings (MeSH) list of index medicus (http://www.nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.html). Authors need to be careful that the abstract reflects the content of the article accurately.
6. **Introduction:** This should summarize the purpose and the rationale for the study. It should neither review the subject extensively nor should it have data or conclusions of the study.
7. **Materials & Methods:** This should include exact method or observation or experiment. If an apparatus is used, its manufacturer's name and address should be given in parenthesis. If the method is established, give reference but if the method is new, give enough information so that another author is able to perform it. If a drug is used, its generic name, dose and route of administration must be given. For patients, age, sex with mean age ± standard deviation must be given. Statistical method must be mentioned and specify any general computer program used.
8. **Results:** It must be presented in the form of text, tables and illustrations. The contents of the tables should not be all repeated in the text. Instead, a reference to the table number may be given. Long articles may need sub-headings within some sections (especially the Results and Discussion parts) to clarify their contents.
9. **Discussion:** This should emphasize the present findings and the variations or similarities with other work done in the field by other workers. The detailed data should not be repeated in the discussion again. Emphasize the new and important aspects of the study and the conclusions that follow from them. It must be mentioned whether the hypothesis mentioned in the article is true, false or no conclusions can be derived.
10. **Acknowledgement:** All contributors who do not meet the criteria for authorship should be covered in the acknowledgement section. It should include persons who provided technical help, writing assistance and departmental head who only provided general support. Financial and material support should also be acknowledged.
11. **Tables:** In limited numbers should be submitted with the **captions placed above**. Do not submit tables as photograph. Place explanatory matters in footnotes, not in the heading.
12. **Figures:** Should be in limited numbers, with high quality art work and mounted on separate pages. The captions **should be placed below**. The same data should not be presented in tables, figures and text, simultaneously.
13. **References**: Should be as **Vancouver style**. All manuscripts should be accompanied by relevant references. The author should ensure reference to locally published studies by doing proper literature search. It may not be possible for the editor and reviewers to check the accuracy of all reference citations. To minimize such

Editorial Board (In alphabetical order)

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

JOURNAL OF ISFAHAN MEDICAL SCHOOL

Vol. 32, No. 295, 4th week, September 2014

Isfahan University of Medical Sciences

Responsible**: Mansour Sholehvar MD** Emerita Editor-in-Chief**: Roya Kelishadi MD**

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

Associate Editor: **Reza Rouzbahani MD, MPH**

Published by:
Isfahan University of Medical Sciences
E-mail: publications@mui.ac.ir

Office:
P.O. Box 81744-176, Isfahan, I.R. IRAN
Telefax: +98 311 7922291
E-mail: jims@med.mui.ac.ir
Website: http://www.journals.mui.ac.ir/jims
Office Secretary: Golnaz Rajabi

Copy edit, Layout edit, Design and Print:
Farzanegan Radandish Co.
P.O. Box 81465-1798, Isfahan, I.R. IRAN
Telefax: +98 311 6686302
E-mail: esfahanfarzanegan@yahoo.com
f.radandish@gmail.com
www.farzaneganco.ir
Circulation: 500

This journal is indexed in the following international indexers

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

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

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