دارای رتبه علمی-پژوهشی از کمیسیون نشریات علوم پزشکی کشور

مجله دانشکده پزشکی اصفهان

JOURNAL OF
ISFAHAN MEDICAL SCHOOL

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

سال سی و دوم/شماره ۳۱۵/ هفته چهارم بهمن ۱۳۹۳ **هفته‌نامه**

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

Weekly Vol. 32, No. 315, 4th Week, February 2015

مقاله‌های پژوهشی

شیوع ژن لکوسیدین پنتون ولنتین در سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از بیماران بیمارستان الزهرای (س) اصفهان ۲۲۱۷
دکتر سید اصغر هوایی، مریم احمدپور، دکتر فرخنده پورسینا، میثم روزبهانی، بهناز اسدبیگی

ارزیابی میزان آنتی‌بادی اختصاصی ضد آنتی‌ژن نوترکیب CFP-10 مایکوباکتریوم توبرکلوزیس در بیماران مبتلا به سل ... ۲۲۲۶
مینا کرمی، دکتر مجید تیانیان

تشخیص بروسلوز به وسیله‌ی سیستم کشت خون BACTEC ۲۲۳۴
دکتر منصوره مومن هروی، مهزاد ارمی، حسن کوشا، فاطمه عشرت آبادی

بررسی اپیدمیولوژی لیشمانیوز جلدی در استان اصفهان در طی سال‌های ۹۰-۱۳۸۰ ..... ۲۲۴۱
دکتر محمد علی نیلفروش زاده، لیلا شیرانی بیدآبادی، دکتر سید محسن حسینی، دکتر رضا فدایی نوبری، دکتر فریبا جعفری

گزارش مورد

بدرمان زخم مقاوم دیابتی با استفاده از تری کلرو استیک اسید و فیبروبلاست؛ گزارش دو مورد ۲۲۵۲
دکتر محمد علی نیلفروش زاده، دکتر فریبا جعفری، دکتر منصور سیاوش، آسیه حیدری، دکتر نازلی انصاری، دکتر امیرحسین سیادت

Original Articles

The Prevalence of Panton-Valentine Leukocidin Gene in Staphylococcus Aureus Isolated from Alzahra Hospital, Isfahan, Iran 2225
Sayed Asghar Havaei PhD, Maryam Ahmadpour, Farkhondeh Poursina PhD, Meysam Ruzbahani, Behnaz Assadbeigi

Evaluation of Specific Antibody against Recombinant CFP-10 Protein of Mycobacterium Tuberculosis in Patients with Tuberculosis 2233
Mina Karami MSc, Majid Tebianian PhD

Diagnosis of Brucellosis via BACTEC Blood Culture System 2240
Mansoureh Momen-Heravi MD, Mahzad Erami MSc, Hasan Kosha, Fatemeh Eshratabadi

The Epidemiology of Cutaneous Leishmaniasis in Isfahan Province, Iran, During 2001-2011 2251
Mohammad Ali Nilforoushzadeh MD, Leila Shirani-Bidabadi MSc, Sayed Mohsen Hosseini PhD, Reza Fadaei-Nobari MD, Fariba Jaffary MD

Case Report

Treatment of Recalcitrant Diabetic Ulcers with Trichloroacetic Acid and Fibroblasts; Case Report ... 2259
Mohammad Ali Nilforoushzadeh MD, Fariba Jaffary MD, Mansour Siavash MD, Asieh Heidari MSc, Nazli Ansari MD, Amir Hossein Siadat MD

مجله دانشکده پزشکی اصفهان

سال سی و دوم، شماره (۳۱۵)، هفته چهارم بهمن 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: ا**ین 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

شیوع ژن لکوسیدین پنتون ولنتین در سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از بیماران بیمارستان الزهرای (س) اصفهان.....۲۲۱۷
دکتر سید اصغر هوایی، مریم احمدپور، دکتر فرخنده پورسینا، میثم روزبهانی، بهناز اسدبیگی

ارزیابی میزان آنتی‌بادی اختصاصی ضد آنتی‌ژن نوترکیب CFP-10 مایکوباکتریوم توبرکلوزیس در بیماران مبتلا به سل.....۲۲۲۶
مینا کرمی، دکتر مجید تبیانیان

تشخیص بروسلوز به وسیله‌ی سیستم کشت خون BACTEC.....۲۲۳۴
دکتر منصوره مومن هروی، مه‌زاد ارمی، حسن کوشا، فاطمه عشرت آبادی

بررسی اپیدمیولوژی لیشمانیوز جلدی در استان اصفهان در طی سال‌های ۹۰-۱۳۸۰.....۲۲۴۱
دکتر محمد علی نیلفروش زاده، لیلا شیرانی بیدآبادی، دکتر سید محسن حسینی، دکتر رضا فدایی نوبری، دکتر فریبا جعفری

گزارش مورد

درمان زخم مقاوم دیابتی با استفاده از تری‌کلرو استیک اسید و فیبروبلاست؛ گزارش دو مورد.....۲۲۵۲
دکتر محمد علی نیلفروش زاده، دکتر فریبا جعفری، دکتر منصور سیاوش، آسیه حیدری، دکتر نازلی انصاری، دکتر امیرحسین سیادت

مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و دوم/شماره ۳۱۵/هفته چهارم بهمن ماه ۱۳۹۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۷/۱۷
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۰/۱۳

شیوع ژن لکوسیدین پنتون ولنتین در سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از بیماران بیمارستان الزهرای (س) اصفهان

دکتر سید اصغر هوایی[۱]، مریم احمدپور[۲]، دکتر فرخنده پورسینا[۳]، میثم روزبهانی[۲]، بهناز اسدبیگی[۲]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: لکوسیدین پنتون ولنتین (PVL یا Panton-Valentine leukocidin) یک توکسین گاما است که توسط استافیلوکوکوس اورئوس تولید می‌شود. این توکسین ضد غشای خارجی سلول‌های پلی‌مورفونوکلئور، مونوسیت‌ها و ماکروفاژها عمل می‌کند و باعث افزایش قدرت نفوذپذیری غشای سلولی و در نتیجه، تخریب لکوسیت‌ها و نکروز بافت می‌شود. هدف از این مطالعه، بررسی میزان شیوع ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس PVL مثبت و تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌ها بود.

روش‌ها: در طی هشت ماه، ۱۳۰ ایزوله‌ی استافیلوکوکوس اورئوس از نمونه‌های بالینی بیمارستان الزهرای (س) اصفهان جمع‌آوری شد. ایزوله‌های دارای ژن PVL با استفاده از روش PCR (Polymerase chain reaction) شناسایی شد. مقاومت ایزوله‌ها نسبت به متی‌سیلین و سایر آنتی‌بیوتیک‌ها به روش انتشار از دیسک بررسی شد و از روش Agar screen برای تأیید ایزوله‌های مقاوم به متی‌سیلین استفاده شد.

یافته‌ها: از مجموع ۱۳۰ ایزوله‌ی استافیلوکوکوس اورئوس، ۶۱ ایزوله (۴۶/۹ درصد) مقاوم به متی‌سیلین (MRSA یا Methicillin-resistant Staphylococcus aureus) و ۶۹ ایزوله (۵۳/۰ درصد) حساس به متی‌سیلین (MSSA یا Methicillin-susceptible Staphylococcus aureus) بود. ۳۰ ایزوله (۲۳/۰ درصد) از نظر وجود ژن PVI مثبت بود. از میان ایزوله‌های PVL مثبت، ۱۹ مورد (۶۳/۳ درصد) MSSA و ۱۱ مورد (۳۶/۷ درصد) MRSA بود.

نتیجه‌گیری: با وجود تأکید بر وجود ژن PVL در ایزوله‌های MRSA، ایزوله‌های MSSA نیز می‌توانند نقش مهمی در انتشار این ژن ایفا کنند و با توجه به این‌که تولید توکسین PVL در سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس یک تهدید جدی برای سلامتی افراد محسوب می‌شود، تشخیص دقیق و سریع این ژن در باکتری فوق امری ضروری به حساب می‌آید. به نظر می‌رسد، دستیابی به یک روش سریع و تکرارپذیر در مراکز پزشکی برای کنترل عفونت با سویه‌های استافیلوکوکوس مولد PVL لازم و ضروری می‌باشد.

واژگان کلیدی: استافیلوکوکوس اورئوس، لکوسیدین پنتون ولنتین، مقاومت آنتی‌بیوتیکی

ارجاع: هوایی سید اصغر، احمدپور مریم، پورسینا فرخنده، روزبهانی میثم، اسدبیگی بهناز. **شیوع ژن لکوسیدین پنتون ولنتین در سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از بیماران بیمارستان الزهرای (س) اصفهان.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۳۱۵): ۲۲۲۵-۲۲۱۷

مقدمه

پاتوژنیسیته‌ی عفونت‌های استافیلوکوکوس اورئوس مربوط به ترکیبات متنوع سطح باکتری شامل مولکول‌های ماتریکس چسبنده (مانند فاکتور توده‌ای کننده) و پروتئین‌های خارج سلولی (مانند کوآگولاز، همولیزین، انتروتوکسین، توکسین سندرم شوک سمی،

۱- استاد، گروه میکروب‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه میکروب‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳- استادیار، گروه میکروب‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: مریم احمدپور
Email: ahmadpour2266@yahoo.com

اکسفولیاتیو و لکوسیدین پنتون ولنتین) می‌باشد (۱). لکوسیدین پنتون ولنتین (PVL یا Panton-Valentine leucocidin) یکی از مهم‌ترین فاکتورهای ویرولانس در استافیلوکوکوس اورئوس است (۳-۲). Panton و Valentine در سال ۱۹۳۲ توکسین لکوسیدین پنتون ولنتین را در سویه‌ی استافیلوکوکوس اورئوس V_8 که از یک بیمار مبتلا به فورونکلوزیس (Furunculosis) جدا شده بود، شناسایی کردند (۴). لکوسیدین پنتون ولنتین یک توکسین گاما در استافیلوکوکوس اورئوس و شامل دو جزء پروتئینی S (۳۸KDa) و F (۳۲KDa) است که تحت کنترل ژن‌های Luks/PV و Lukf/PV می‌باشد. این توکسین بر علیه غشای خارجی سلول‌های پلی‌مورفونوکلئور، مونوسیت‌ها و ماکروفاژهای انسانی عمل می‌کند و بسته به غلظت توکسین، باعث باز شدن کانال‌های کلسیم و نکروز و آپوپتوزیس لکوسیت‌های انسانی می‌شود (۷-۵).

لکوسیدین پنتون ولنتین به شدت با سویه‌های CA-MRSA (Community-acquired-Methicillin-resistant Staphylococcus aureus) در ارتباط است، اما ژن‌های LUKS/LUKF-PV می‌توانند توسط سویه‌های MSSA (Methicillin-susceptible Staphylococcus aureus) نیز حمل شوند (۸). سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس PVL مثبت دارای ویرولانس بالایی هستند و بیشتر با فورانکل، آبسه‌های پوستی و عفونت‌های نکروتیک شدید همراه می‌باشند (۵-۱). یکی دیگر از دلایل اهمیت استافیلوکوکوس اورئوس، مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی شاخص آن است. امروزه استافیلوکوک‌ها به بیشتر داروهای بتالاکتام (β-Lactam) مقاوم هستند و حدود ۳۰ تا بیش از ۵۰ درصد آن‌ها به متی‌سیلین مقاوم شده‌اند. نتایج به دست آمده از مطالعات مختلف نشان دهنده‌ی افزایش انواع استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین (Methicillin-resistant Staphylococcus aureus یا MRSA) می‌باشد (۱۰-۹). استافیلوکوکوس اورئوس PVL مثبت در سال‌های اخیر توجه زیادی را به خود جلب کرده است (۱۱). با توجه به اهمیت این سویه‌ها، مطالعه‌ی حاضر به بررسی شیوع ژن پنتون ولنتین لکوسیدین در سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس و تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در آن‌ها پرداخت.

روش‌ها

در این مطالعه ۱۳۰ ایزوله‌ی استافیلوکوکوس اورئوس در طی هشت ماه از نمونه‌های بالینی مختلف [زخم، خون، آبسه، ادرار، تراشه، CSF (Cerebrospinal fluid) و نمونه‌های اخذ شده از کاتتر] بیمارستان الزهرای (س) اصفهان جمع‌آوری شد. شناسایی فنوتیپی ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس توسط تست‌های رنگ‌آمیزی گرم، بررسی کاتالاز، کوآگولاز، DNase (Deoxyribonuclease) و کشت روی محیط Mannitol salt agar صورت گرفت و نمونه‌های مورد تأیید تا انجام آزمایش‌های بعدی در محیط BHI (Brain heart infusion broth) حاوی ۱۵ درصد گلیسرول و در دمای ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد. روش انتشار از دیسک Kirby-Bauer جهت بررسی مقاومت دارویی اولیه مورد استفاده قرار گرفت.

حساسیت ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به دیسک‌های تتراسایکلین، سیپروفلوکساسین، جنتامایسین، اگزاسیلین، ریفامپین، کوتریموکسازول،

آمپی‌سیلین، کلیندامایسین و ونکومایسین (خریداری شده از شرکت HiMedia هند) بر روی محیط Mueller-Hinton agar و بر اساس استانداردهای CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) بررسی (۱۲) و سوش‌های حساس و مقاوم مشخص گردید.

تعیین حساسیت نسبت به متی‌سیلین به روش Agar screen: برای جداسازی ایزوله‌های مقاوم به متی‌سیلین از روش Agar screen به عنوان یک روش مکمل در کنار روش انتشار از دیسک استفاده شد. طبق استاندارد CLSI، محیط Mueller-Hinton agar (حاوی ۴ درصد نمک و ۶ میکروگرم در میلی‌لیتر اگزاسیلین) تهیه شد (۱۲). ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون معادل با ۰/۵ McFarland که از کشت ۲۴ ساعته‌ی باکتری تهیه شده بود، به صورت نقطه‌ای روی محیط‌ها تلقیح گردید. سپس پلیت‌ها در دمای ۳۵ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار گرفتند و بعد از گذشت ۲۴ ساعت، هر گونه رشدی در محل تلقیح به عنوان مقاومت در نظر گرفته شد. در این روش سویه‌های ATCC25923 و ATCC33591 به عنوان شاهد منفی و مثبت استفاده گردید (۱۴-۱۳).

ارزیابی ژنوتیپی سویه‌ها: استخراج DNA به روش Phenol-Chloroform به شرح زیر انجام شد:

۵۰۰ میکرولیتر سرم فیزیولوژی در یک میکروتیوب ۱/۵ میلی‌لیتری ریخته شد و یک لوپ از کشت ۲۴ ساعته‌ی باکتری به آن اضافه و به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۸۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ گردید. مایع رویی را خالی کرده و ۵۰۰ میکرولیتر Lysis Buffer به میکروتیوب اضافه شد. میکروتیوب به مدت ۲۰ دقیقه در بن‌ماری ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد. سپس ۵۰۰ میکرولیتر فنل (Phenol) به میکروتیوب اضافه و به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ گردید. مایع رویی به میکروتیوب جدید منتقل شد. در مرحله‌ی بعد ۵۰۰ میکرولیتر کلروفرم (Chloroform) به آن افزوده و به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۸۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ گردید. مایع رویی به میکروتیوب جدید منتقل و یک میلی‌لیتر الکل ۹۶ درصد و ۱۵۰ میکرولیتر محلول کلرید پتاسیم سه مولار به میکروتیوب اضافه و میکروتیوب به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه و در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد سانتریفوژ شد.

DNA (Deoxyribonucleic acid) رسوب یافته در ته میکروتیوپ سه بار با الکل ۷۰ درصد شستشو داده شد. پس از اتمام این مرحله، DNA به صورت توده‌ی سفید رنگ در ته میکروتیوب قابل مشاهده بود. میکروتیوپ به مدت ۳۰ دقیقه در Hot plate گذاشته شد تا الکل باقی‌مانده به خوبی تبخیر شود. در نهایت ۵۰ میکرولیتر آب مقطر به میکروتیوب‌ها اضافه و میکروتیوب در دمای ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد (۱۵).

انجام روش PCR (Polymerase chain reaction) برای تشخیص ژن PVL: دو پرایمر Forward و Reverse به وسیله‌ی نرم‌افزار Gene runner طراحی و توسط نرم‌افزار آنلاین Oligo Analysis و سایت NCBI (National center for biotechnology information) ارزیابی شد.

پرایمر LukS-PV-F شامل توالی

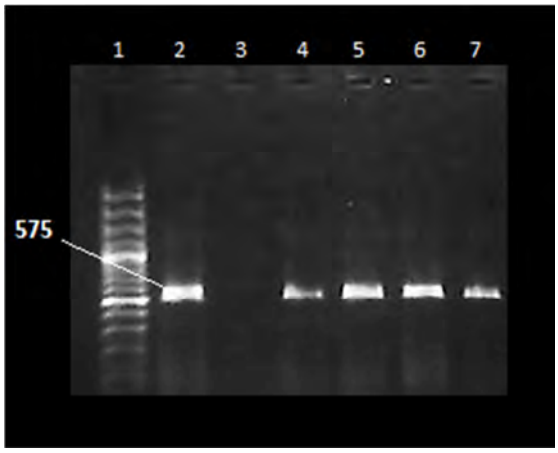
5´ AGAAGATACAAGTAGCGATAAGTG 3´ و پرایمر LukS-PV-R شامل توالی 5´ AAGGATTGAAACCACTGTGTAC 3´ و هر دو دارای ۵۷۵ جفت باز بودند. جهت بررسی حضور ژن PVL، روش PCR بر روی همه‌ی ایزوله‌ها انجام شد.

واکنش PCR برای شناسایی ژن PVL با استفاده از دستگاه ترموسایکلر و با مخلوط واکنش حاوی ۲/۵ میکرولیتر بافر ۱۰X، ۰/۷۵ میکرولیتر کلرید منیزیم (۲۵ میلی‌مولار)، ۰/۵ میکرومول dNTPs (Deoxynucleoside triphosphates)، ۰/۲۵ واحد آنزیم Taq پلیمراز، ۱ میکرولیتر از هر پرایمر، ۲ میکرولیتر DNA الگو (با غلظت ۲۰۰ نانوگرم بر میکرولیتر) و ۱۷ میکرولیتر آب مقطر در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر انجام شد. برنامه‌ی اجرایی چرخه‌های PCR شامل واسرشتگی اولیه (Denaturation) در دمای ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد، ۳۵ چرخه‌ی تکثیر شامل واسرشتگی در دمای ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال پرایمرها به DNA الگو (Annealing) در دمای ۵۵/۸ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، طویل شدن رشته‌ی الگو (Extension) در دمای ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه و طویل شدن نهایی (Final extension) به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد بود.

برای مشاهده‌ی طول محصول مورد نظر از روش الکتروفورز و ژل آگاروز ۱/۵ درصد استفاده شد. نتایج الکتروفورز محصول PCR در شکل ۱ آمده است.

یافته‌ها

نتایج آنتی‌بیوگرام ۱۳۰ ایزوله‌ی استافیلوکوکوس اورئوس از نظر مقاومت در برابر آنتی‌بیوتیک‌های انتخابی در جدول ۱ آمده است.



شکل ۱. الکتروفورز محصول PCR (Polymerase chain reaction) برای ژن PVL (Panton-Valentine leukocidin)
ستون ۱ = مارکر ۱۰۰ جفت باز؛ ستون ۲ = سویه‌ی شاهد مثبت (NCTC 13300)؛ ستون ۳ = سویه‌ی شاهد منفی؛ ستون ۴ = سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس PVL مثبت.

تعیین حساسیت نسبت به اگزاسیلین به روش Agar screen: با استفاده از این روش مشخص شد که ۶۱ ایزوله (۴۶/۹ درصد) از ۱۳۰ ایزوله‌ی مورد بررسی مطالعه‌ی حاضر دارای مقاومت به حداقل غلظت ۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر نسبت به آنتی‌بیوتیک اگزاسیلین بودند و MRSA محسوب شدند. از مجموع ۱۳۰ ایزوله‌ی استافیلوکوکوس اورئوس، ۳۰ ایزوله (۲۳/۰ درصد) از نظر وجود ژن PVL مثبت گزارش گردید. در میان ایزوله‌های PVL مثبت، ۱۹ ایزوله (۶۳/۳ درصد) MSSA و ۱۱ ایزوله (۳۶/۷ درصد) MRSA بودند. بیشترین ایزوله‌های PVL مثبت به جدایه‌های پوستی (آبسه و زخم) اختصاص داشت (جدول ۲).

جدول ۱. نتایج آنتی‌بیوگرام ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از نمونه‌های بالینی بیمارستان الزهرای (س) اصفهان

نوع آنتی‌بیوتیک	مقاومت در ایزوله‌های MRSA (تعداد = ۶۱)	مقاومت در کل ایزوله‌ها (تعداد = ۱۳۰)
	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)
کلیندامایسین	۴۹ (۸۰/۳)	۵۱ (۳۹/۲)
ریفامپین	۴۵ (۷۳/۸)	۴۹ (۳۷/۷)
تتراسایکلین	۶۰ (۹۸/۴)	۶۸ (۵۲/۳)
جنتامایسین	۳۵ (۵۷/۴)	۴۰ (۳۰/۸)
اگزاسیلین	۶۱ (۱۰۰)	۶۱ (۴۶/۹)
کوتریموکسازول	۱۷ (۲۷/۹)	۱۶ (۱۲/۳)
سیپروفلوکساسین	۳۶ (۵۹/۰)	۳۸ (۲۹/۲)
آمپی‌سیلین	۴۴ (۷۲/۱)	۴۵ (۳۴/۶)
ونکومایسین	۰ (۰/۰)	۰ (۰/۰)

MRSA: Methicillin-resistant Staphylococcus aureus

جدول ۲. توزیع فراوانی ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس **PVL** مثبت جدا شده از نمونه‌های بالینی بیمارستان الزهرای (س) اصفهان به تفکیک نوع نمونه و مقاومت به متی‌سیلین

نوع عفونت	تعداد ایزوله‌ها	ایزوله‌های PVL مثبت	ایزوله‌ها در هر گروه			
			MSSA		MRSA	
		تعداد (درصد)	جمع [تعداد (درصد)]	PVL مثبت [تعداد (درصد)]	جمع [تعداد (درصد)]	PVL مثبت [تعداد (درصد)]
زخم	۴۵	۱۱ (۲۴/۴)	۲۴ (۵۳/۳)	۷ (۲۹/۱)	۲۱ (۴۶/۷)	۴ (۱۹/۰)
خون	۲۲	۷ (۳۱/۸)	۱۴ (۶۳/۶)	۴ (۲۸/۶)	۸ (۳۶/۴)	۳ (۳۷/۵)
ادرار	۲۱	۶ (۲۸/۶)	۹ (۴۲/۸)	۴ (۴۴/۴)	۱۲ (۵۷/۱)	۲ (۱۶/۷)
آبسه	۱۴	۴ (۲۸/۶)	۱۰ (۷۱/۴)	۳ (۳۰/۰)	۴ (۲۸/۶)	۱ (۲۵/۰)
تراشه	۹	۱ (۱۱/۱)	۵ (۵۵/۵)	۰ (۰/۰)	۴ (۴۴/۴)	۱ (۲۵/۰)
CSF	۵	۱ (۲۰/۰)	۳ (۶۰/۰)	۱ (۳۳/۳)	۲ (۴۰/۰)	۰ (۰/۰)
کاتتر	۷	۰ (۰/۰)	۲ (۲۸/۶)	۰ (۰/۰)	۵ (۷۱/۴)	۰ (۰/۰)
کشت گلو	۳	۰ (۰/۰)	۱ (۳۳/۳)	۰ (۰/۰)	۲ (۶۶/۷)	۰ (۰/۰)
سایر نمونه‌ها	۴	۰ (۰/۰)	۱ (۲۵/۰)	۰ (۰/۰)	۳ (۷۵/۰)	۰ (۰/۰)

MRSA: Methicillin-resistant Staphylococcus aureus; MSSA: Methicillin-susceptible Staphylococcus aureus; PVL: Panton-Valentine leucocidin; CSF: Cerebrospinal fluid

بحث

PVL فاکتور ویرولانسی است که توسط یک باکتریوفاژ حمل می‌شود و قابل انتقال به دیگر استافیلوکوک‌ها می‌باشد (۱۶-۵). سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس PVL مثبت ویرولانس بالایی دارند و مسؤول عفونت‌های شدیدی مانند عفونت مغز استخوان، مفصل و پنومونی نکروز دهنده هستند (۱۷-۵). بنابراین تشخیص سریع و کنترل به موقع سویه‌های مولد ژن PVL امری ضروری به حساب می‌آید.

ملا عباس‌زاده و همکاران شیوع ژن PVL را در سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس بررسی کردند و

از مجموع ۱۰۰ سویه‌ی مورد بررسی، ۱۸ سویه (۱۸/۰ درصد) از نظر وجود ژن PVL مثبت گزارش شد که از این مجموع ۹۴/۴ درصد MRSA و ۵/۶ درصد MSSA بود. بیشترین سویه‌های PVL مثبت به سویه‌های جدا شده از خون و ادرار اختصاص داشت و در نمونه‌های جدا شده از ترشحات بینی، تراشه، آبسه و کاتتر سویه PVL مثبت گزارش نشد (۱۸). در نتایج به دست آمده از مطالعه‌ی حاضر نیز بیشترین ایزوله‌های PVL مثبت مربوط به نمونه‌های زخم (۳۶/۷ درصد)، خون (۲۳/۳ درصد) و ادرار (۲۰/۰ درصد)، اما ایزوله‌های PVL مثبت بیشتر MSSA بود.

در مطالعه‌ی خسروی و همکاران شیوع ژن PVL در ایزوله‌های MRSA برابر با ۷/۲ درصد و در ایزوله های MSSA برابر با ۳۳/۳ درصد گزارش شد (۱۹) که با نتایج مطالعه‌ی حاضر مطابقت داشت. در تحقیقی در انگلستان کمتر از ۲/۰ درصد ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس، PVL مثبت بودند که ۶۵/۰ درصد در پوست و بافت نرم یافت شد (۵). به تازگی بیشتر تحقیقات بر روی سویه‌های PVL مثبت MRSA متمرکز است؛ در صورتی که عفونت‌های PVL مثبت MSSA نیز نقش مهمی در انتشار سویه‌های PVL مثبت ایفا می‌کنند. حدود ۶۰/۰ درصد کل سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس PVL مثبت در انگلستان در پنج سال گذشته حساس به متی‌سیلین بودند (۱۷). نکته‌ی اساسی در مطالعه‌ی حاضر نیز نسبت بالای PVL مثبت در سویه‌های MSSA است.

مطالعه‌ی Cupane و همکاران نشان داد که ۷۵/۰ درصد ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس، واجد ژن PVL بودند (۵) و بیشتر آن‌ها (۶۰/۷ درصد) مانند مطالعه‌ی حاضر MSSA بودند. Brown و همکاران در پژوهش خود ۱۰۵۵ سویه‌ی استافیلوکوکوس اورئوس را از نظر وجود ژن‌های LukSF/PV بررسی کردند. ۳۷۷ سویه (۳۵/۷ درصد) این ژن را داشتند (۱۱) که بر خلاف مطالعه‌ی حاضر بیشتر سویه‌های PVL مثبت (۸۹/۰ درصد)، MRSA و تنها ۱۱/۰ درصد MSSA بودند. به طور کلی تفاوت در نتایج این مطالعات می‌تواند به دلیل اختلاف در منطقه‌ی جغرافیایی و نوع نمونه‌ی اخذ شده باشد.

بر اساس مطالعه‌ی حاضر، ۴۶/۹ درصد ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده به متی‌سیلین مقاوم بودند. مطالعه‌ی Orrett و Land نشان داد که از ۲۴۳۰ سویه‌ی استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از منابع بیمارستانی، ۲۰/۸ درصد MRSA می‌باشند (۲۰). دارابی و همکاران در مطالعه‌ی خود بر روی سویه‌های جدا شده از بیماران و کارکنان بیمارستانی ارتش، میزان مقاومت به متی‌سیلین را ۹۰/۰ درصد گزارش نمودند (۱۵). شریعتی و همکاران نیز میزان سویه‌های MRSA را در بین ۱۹۶ سویه‌ی استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از نمونه‌های بالینی ۴۹/۰ درصد بیان کردند (۲۱). پژوهشی بر روی ۷۰ سویه‌ی استافیلوکوکوس اورئوس نشان داد بیشترین مقاومت سویه‌های MRSA به آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین (۱۰۰ درصد)، تتراسایکلین (۷۴/۲ درصد)، اریترومایسین (۶۸/۵ درصد)، کوتریموکسازول (۶۸/۵ درصد) و ریفامپین (۱۱/۴ درصد) می‌باشد (۱۵) که مقاومت به ریفامپین در مقایسه با مطالعه‌ی حاضر بیشتر بود.

تحقیق Miller و همکاران بر روی ۱۸۰ سویه‌ی استافیلوکوکوس اورئوس نشان داد که ۱۰۸ سویه (۶۰/۰ درصد) MRSA بودند و مقاومت سویه‌های MRSA به تتراسایکلین ۱۹/۰ درصد و به کلیندامایسین ۵/۰ درصد بود (۲۲). در مطالعه‌ی حاضر مقاومت به کلیندامایسین و تتراسایکلین بیشتر از تحقیق Miller و همکاران (۲۲) بود. ۳۶/۰ درصد سویه‌های مورد بررسی در مطالعه‌ی Ionescu و همکاران MRSA بودند و مقاومت ایزوله‌های MRSA به تتراسایکلین ۹۹/۰ درصد، ریفامپین ۶۹/۰ درصد، جنتامایسین ۶۳/۰ درصد، سیپروفلوکساسین ۵۸/۰ درصد و کوتریموکسازول ۵/۰ درصد گزارش شد (۲۳) که با نتایج به دست آمده از مطالعه‌ی حاضر مطابقت داشت.

استافیلوکوک‌ها به دلیل استفاده‌ی بی‌رویه از آنتی‌بیوتیک‌ها، وجود توانایی بالا در تبادلات ژنتیکی و حضور انواع پلاسمیدهای مقاومتی به بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌های رایج در درمان مقاومت نشان می‌دهند (۸). نتایج به دست آمده بر این نکته تأکید می‌کند که میزان حساسیت یا مقاومت سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس به آنتی‌بیوتیک‌های رایج مصرفی در نقاط مختلف جغرافیایی جهان متفاوت است و با توجه به کاهش روزافزون حساسیت این سویه‌ها به آنتی‌بیوتیک‌ها، کنترل بهینه در مصرف آن‌ها نقش مهمی در جلوگیری از سوش‌های مقاوم خواهد داشت.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از استادان محترم گروه میکروبیولوژی دانشکده‌ی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان و به خصوص جناب آقای دکتر خان‌احمد تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

References

1. Lina G, Piemont Y, Godail-Gamot F, Bes M, Peter MO, Gauduchon V, et al. Involvement of Panton-Valentine leukocidin-producing Staphylococcus aureus in primary skin infections and pneumonia. Clin Infect Dis 1999; 29(5): 1128-32.
2. Supersac G, Prevost G, Piemont Y. Sequencing of leucocidin R from Staphylococcus aureus P83 suggests that staphylococcal leucocidins and gamma-hemolysin are members of a single, two-component family of toxins. Infect Immun 1993; 61(2): 580-7.
3. Clark J. A brief review of Panton-Valentine leukocidin producing staphylococcal infections in the intensive therapy unit. Current Anaesthesia and Critical Care 19(5): 330-2.
4. Colin DA, Mazurier I, Sire S, Finck-Barbancon V. Interaction of the two components of leukocidin from Staphylococcus aureus with human polymorphonuclear leukocyte membranes: sequential binding and subsequent activation. Infect Immun 1994; 62(8): 3184-8.
5. Cupane L, Pugacova N, Berzina D, Cauce V, Gardovska D, Miklasevics E. Patients with Panton-Valentine leukocidin positive Staphylococcus aureus infections run an increased risk of longer hospitalisation. Int J Mol Epidemiol Genet 2012; 3(1): 48-55.
6. John JF, Jr., Lindsay JA. Clones and drones: do variants of Panton-Valentine leukocidin extend the reach of community-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus? J Infect Dis 2008; 197(2): 175-8.
7. Rossney AS, Shore AC, Morgan PM, Fitzgibbon MM, O'Connell B, Coleman DC. The emergence and importation of diverse genotypes of methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) harboring the Panton-Valentine leukocidin gene (pvl) reveal that pvl is a poor marker for community-acquired MRSA strains in Ireland. J Clin Microbiol 2007; 45(8): 2554-63.
8. Vandenesch F, Naimi T, Enright MC, Lina G, Nimmo GR, Heffernan H, et al. Community-acquired methicillin-resistant Staphylococcus aureus carrying Panton-Valentine leukocidin

genes: worldwide emergence. Emerg Infect Dis 2003; 9(8): 978-84.
9. Chambers HF, Deleo FR. Waves of resistance: Staphylococcus aureus in the antibiotic era. Nat Rev Microbiol 2009; 7(9): 629-41.
10. Lindsay JA. Evolution of Staphylococcus aureus and MRSA during outbreaks. Infect Genet Evol 2014; 21: 548-53.
11. Brown ML, O'Hara FP, Close NM, Mera RM, Miller LA, Suaya JA, et al. Prevalence and sequence variation of panton-valentine leukocidin in methicillin-resistant and methicillin-susceptible staphylococcus aureus strains in the United States. J Clin Microbiol 2012; 50(1): 86-90.
12. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 22nd informational supplement; CLSI document M100-S22. Wayne, PA: CLSI; 2012.
13. Rezazadeh M, Yousefi Mashouf R, Sarmadyan H, Ghaznavi-Rad E. Antibiotic profile of methicillin-resistant Staphylococcus aureus with multiple-drug resistances isolated from nosocomial infections in Vali-Asr Hospital of Arak. J Arak Univ Med Sci 2013; 16(2): 29-37. [In Persian].
14. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard. CLSI document M02-A11. 11th ed. Wayne, PA: CLSI; 2012.
15. Darabi N, Habibollahi H, Shahbabian K. Molecular epidemiology of Staphylococcus aureus Isolated from patients and personnel in Army hospital. J Army Univ Med Sci I R Iran 2010; 8(3): 193-9. [In Persian].
16. O'Hara FP, Guex N, Word JM, Miller LA, Becker JA, Walsh SL, et al. A geographic variant of the Staphylococcus aureus Panton-Valentine leukocidin toxin and the origin of community-associated methicillin-resistant S. aureus USA300. J Infect Dis 2008; 197(2): 187-94.
17. Otokunefor K, Sloan T, Kearns AM, James R. Molecular characterization and panton-valentine leucocidin typing of community-acquired methicillin-sensitive Staphylococcus aureus clinical isolates. J Clin Microbiol 2012; 50(9): 3069-72.
18. Molla-abbaszadeh H, Mobayen H, Mirzaei H. Identification of pantonvalentine leukocidin (pvl) genes in staphylococcus aureus isolated from ipatients of Emam Reza and Shohada Hospitals of Tabriz by real-time PCR. Iran J Med Microbiol 2013; 6(4): 72-80. [In Persian].
19. Khosravi AD, Hoveizavi H, Farshadzadeh Z. The prevalence of genes encoding leukocidins in Staphylococcus aureus strains resistant and sensitive to methicillin isolated from burn patients in Taleghani Hospital, Ahvaz, Iran. Burns 2012; 38(2): 247-51.
20. Orrett FA, Land M. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus prevalence: current susceptibility patterns in Trinidad. BMC Infect Dis 2006; 6: 83.
21. Shariati L, Validi M, Tabatabaiefar MA, Karimi A, Nafisi MR. Comparison of real-time PCR with disk diffusion, agar screen and E-test methods for detection of methicillin-resistant Staphylococcus aureus. Curr Microbiol 2010; 61(6): 520-4.
22. Miller LG, Perdreau-Remington F, Bayer AS, Diep B, Tan N, Bharadwa K, et al. Clinical and epidemiologic characteristics cannot distinguish community-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus infection from methicillin-susceptible S. aureus infection: a prospective investigation. Clin Infect Dis 2007; 44(4): 471-82.
23. Ionescu R, Mediavilla JR, Chen L, Grigorescu DO, Idomir M, Kreiswirth BN, et al. Molecular characterization and antibiotic susceptibility of Staphylococcus aureus from a multidisciplinary hospital in Romania. Microb Drug Resist 2010; 16(4): 263-72.

Journal of Isfahan Medical School
Received: 09.10.2014
Vol. 32, No. 315, 4th Week, February 2015
Accepted: 03.01.2015

The Prevalence of Panton-Valentine Leukocidin Gene in Staphylococcus Aureus Isolated from Alzahra Hospital, Isfahan, Iran

Sayed Asghar Havaei PhD[1], Maryam Ahmadpour[2], Farkhondeh Poursina PhD[3], Meysam Ruzbahani[2], Behnaz Assadbeigi[2]

Original Article

Abstract

Background: Panton-Valentine leukocidin (PVL) is a Staphylococcus aureus gamma toxin. This toxin targets the outer membrane of polymorphnuclear cells, monocytes and macrophages. This toxin increases the cell membrane permeability that result degradation and necrosis of leukocytes. The aim of this study was to determine the frequency of PVL-positive Staphylococcus aureus and also, to determine antibiotic resistance of the isolates.

Methods: The total of 130 isolates were isolated and detected as Staphylococcus aureus during the period of 8 months in Alzahra Hospital, Isfahan, Iran. Then, polymerase chain reaction (PCR) method was used to detect PVL gene. The antibiotic susceptibility of all isolates to methicillin was determined using disk diffusion and agar screening methods.

Findings: Of 130 isolates, 61 (46.92%) were methicillin-resistant and 69 (53.08%) methicillin-susceptible Staphylococcus aureus isolates (MRSA and MSSA, respectively). We found that 23.08% of isolates (30/130) were positive for PVL; of them, 11 (36.33%) were of MRSA and 19 (63.67%) were of MSSA isolates.

Conclusion: Despite the existence of PVL genes in MRSA isolates, MSSA isolates can also play an important role in the dissemination of this gene. Since, PVL toxin producing strains of Staphylococcus aureus are of serious threat for health, rapid and accurate detection of gene is necessary. So, it seems that achieving a rapid and repeatable method for medical centers, will help the timely diagnosis and control of PVL-producing strains.

Keywords: Staphylococcus aureus, Panton-Valentine leukocidin, Antibiotic resistance

Citation: Havaei SA, Ahmadpour M, Poursina F, Ruzbahani M, Assadbeigi B. **The Prevalence of Panton-Valentine Leukocidin Gene in Staphylococcus Aureus Isolated from Alzahra Hospital, Isfahan, Iran.** J Isfahan Med Sch 2015; 32(315): 2217-25

1- Professor, Department of Microbiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
2- MSc Student, Department of Microbiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
3- Assistant Professor, Department of Microbiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
Corresponding Author: Maryam Ahmadpour, Email: ahmadpour2266@yahoo.com

مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و دوم/شماره ۳۱۵/هفته چهارم بهمن ماه ۱۳۹۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۷/۲۳
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۰/۱۹

ارزیابی میزان آنتی‌بادی اختصاصی ضد آنتی‌ژن نوترکیب CFP-10 مایکوباکتریوم توبرکلوزیس در بیماران مبتلا به سل

مینا کرمی[۱]، دکتر مجید تبیانیان[۲]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: بیماری سل یکی از معضلات بهداشتی جامعه‌ی بشری است. روش سنتی تشخیص این بیماری مبتنی بر تست جلدی توبرکولین (TST یا Tuberculin skin test) می‌باشد که این دارای حساسیت و ویژگی پایینی است و هر گونه برخورد قبلی با مایکوباکتریوم‌های غیر بیماری‌زا نیز می‌تواند منجر به نتایج مثبت کاذب در آن شود. هدف از این مطالعه، طراحی روش تشخیص سرولوژیک دقیق و سریع با استفاده از آنتی‌ژن نوترکیب CFP-10 برای تشخیص افراد مبتلا به سل از افراد غیر آلوده بود.

روش‌ها: ۵۱ نفر از بیماران مبتلا به سل به عنوان گروه تحت آزمایش و ۳۹ نفر نیز به عنوان گروه شاهد در نظر گرفته شدند و وجود آنتی‌بادی اختصاصی ضد آنتی‌ژن CFP-10، در نمونه‌های سرمی آن‌ها به وسیله‌ی آزمون ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) غیر مستقیم مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: از مجموع ۵۱ نمونه‌ی سرم بیماران مسلول مورد بررسی (در رقت ۱/۱۰)، ۴۷ نمونه دارای آنتی‌بادی ضد CFP-10 بود و در ۳۹ نمونه‌ی سرم افراد سالم، ۳۳ نمونه فاقد آنتی‌بادی ضد این آنتی‌ژن بود ($P < ۰/۰۱$). بنابراین، میزان حساسیت روش طراحی شده در این مطالعه، ۹۲/۱۵ و اختصاصیت آن ۸۴/۶۱ درصد تعیین شد. میزان حساسیت و اختصاصیت روش در رقت ۱/۱۰۰ به ترتیب ۶۴/۷۰ و ۹۷/۴۳ درصد بود. بر همین اساس، نقطه‌ی برش نیز در رقت ۱/۱۰، ۰/۳۵۱ و در رقت ۱/۱۰۰، ۰/۲۵۰ تعیین گردید.

نتیجه‌گیری: نتایج به دست آمده نشان داد که میزان آنتی‌بادی اختصاصی ضد CFP-10 در گروه بیماران مبتلا به سل تفاوت معنی‌داری با گروه افراد سالم داشت. لذا می‌توان نتیجه‌گیری کرد که اندازه‌گیری آنتی‌بادی فوق می‌تواند کاندید مناسبی برای تشخیص بیماری سل و یا بررسی سیر بیماری در افراد مورد درمان باشد.

واژگان کلیدی: توبرکلوزیس، آنتی‌بادی، پروتئین نوترکیب CFP-10

ارجاع: کرمی مینا، تبیانیان مجید. **ارزیابی میزان آنتی‌بادی اختصاصی ضد آنتی‌ژن نوترکیب CFP-10 مایکوباکتریوم توبرکلوزیس در بیماران مبتلا به سل.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۳۱۵): ۲۲۳۳-۲۲۲۶

مقدمه

مایکوباکتریوم توبرکلوزیس به عنوان باکتری ایجاد کننده‌ی بیماری سل، امروزه عامل مهم بیماری و مرگ و میر به ویژه در کشورهایی با سطح بهداشتی پایین محسوب می‌شود. این باکتری پس از ورود می‌تواند در سراسر بدن گسترش یافته، کانون‌های متعدد عفونت را ایجاد و اعضای مختلفی از بدن را گرفتار کند (۱). بیشتر آزمون‌های معمول تشخیص سل

۱- کارشناس ارشد، گروه میکروبیولوژی، دانشکده‌ی علوم و فناوری‌های نوین، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم دارویی، تهران، ایران
۲- استادیار، گروه بیوتکنولوژی، مؤسسه‌ی تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، کرج، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر مجید تبیانیان
Email: mtebianian@yahoo.com

معایبی دارند، بنابراین تصمیم‌گیری برای درمان این بیماری بر اساس مجموعه‌ی چند آزمون تشخیصی انجام می‌گیرد (۲). یکی از روش‌های سنتی که از دیرباز در تشخیص بیماری سل مورد استفاده بوده است، آزمون جلدی توبرکولین (Tuberculin skin test یا TST) می‌باشد که هنوز به همراه سایر آزمون‌های تشخیصی مورد توجه قرار می‌گیرد. در این روش میزان ازدیاد حساسیت تأخیری نسبت به تزریق داخل جلدی مایع توبرکولین (Purified protein derivative یا PPD) اندازه‌گیری می‌شود، اما این روش دارای حساسیت و ویژگی پایینی است و هر گونه برخورد قبلی با مایکوباکتریوم‌های غیر بیماری‌زا نیز می‌تواند منجر به ایجاد نتایج مثبت کاذب در آن شود. با توجه به مشکلات موجود در زمینه‌ی تشخیص این بیماری، مطالعات فراوانی در حیطه‌ی آزمون‌های نوین تشخیصی و شناخت آنتی‌ژن‌های مایکوباکتریوم صورت گرفته است (۲).

مایکوباکتریوم توبرکلوزیس آنتی‌ژن‌های پروتئینی متعددی دارد که برخی از آن‌ها در سیتوپلاسم و دیواره‌ی سلولی قرار دارند و تعداد دیگری نیز ترشح می‌شوند (۳). یکی از پروتئین‌های اختصاصی و ترشحی مایکوباکتریوم توبرکلوزیس، آنتی‌ژن ۱۰ کیلودالتونی به نام CFP-10 است که توسط ژن esxB کدگذاری می‌شود (۴). آنتی‌ژن CFP-10 در منطقه‌ی RD1 از ژنوم باکتریایی بیان می‌گردد و با استفاده از سیستم ترشحی خاصی، عامل بیماری‌زای خود را به درون ماکروفاژهای میزبان و سلول‌های مونوسیت خون وارد می‌کند و باعث عفونت می‌گردد. این آنتی‌ژن دارای خاصیت آب‌گریز و ساختار آن α-helical است (۴). پروتئین‌های بیان شده توسط RD1 باعث تخریب غشای سلول میزبان می‌شوند و مایکوباکتریوم توبرکلوزیس این پروتئین‌ها را برای لیز کردن سلول میزبان و انتشار و عبور از سلولی به سلول دیگر استفاده می‌کند. آنتی‌ژن CFP-10 به همراه ESAT-6 (Early secretory antigenic target-۶) در تمام مایکوباکتریوم‌های پاتوژن وجود دارد، ولی در سویه‌های مولد واکسن BCG (Bacillus calmette-guerin) و مایکوباکتریوم‌های فرصت‌طلب وجود ندارد (۵). بنابراین بسیار اختصاصی هستند و می توانند به عنوان عامل مناسبی در تشخیص عفونت های مایکوباکتریوم توبرکلوزیس مطرح باشند (۶-۵).

با توجه به مشکلات اشاره شده در روش تشخیص سل و با توجه به این‌که امروزه کاربرد روش‌های سرولوژیک افزایش فراوانی یافته است، هدف از این مطالعه بررسی میزان آنتی‌بادی‌های اختصاصی موجود بر علیه آنتی‌ژن نوترکیب CFP-10 در بیماران مبتلا به سل بود تا با استفاده از نتایج به دست آمده بتوان روش تشخیصی دقیق و حساسی برای بیماران مبتلا ارایه نمود.

روش‌ها

در مطالعه‌ی حاضر ۵۱ نفر بیمار مبتلا به سل که در بیمارستان مسیح دانشوری بستری بودند، به عنوان گروه بیمار و ۳۹ نفر از افراد سالم به عنوان گروه شاهد در نظر گرفته شدند و ضمن بررسی سوابق و انجام معاینه های بالینی توسط پزشک متخصص، از آن‌ها ۵ میلی‌لیتر خون گرفته شد. بعد از جداسازی سرم این افراد به وسیله‌ی سانتریفوژ، نمونه‌ها تا انجام آزمایش در فریزر ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری

گردید. تمام بیماران شرکت کننده شامل افرادی بودند که بعد از بررسی بالینی و میکروبیولوژیک از نظر وجود باسیل مایکوباکتریوم توبرکلوزیس، مبتلا به سل شناخته شدند. نتایج به دست آمده از کشت، حداقل در یکی از نمونه‌های کسب شده از بیماران مثبت بود.

آنتی‌ژن CFP-10 پیش‌تر به صورت نوترکیب تهیه و تخلیص شده بود. به منظور شناسایی و تعیین هویت آنتی‌ژن نوترکیب CFP-10، الکتروفورز عمودی در ژل پلی‌آکریلامید (Sodium dodecyl sulfate-Polyacrylamide gel electrophoresis یا SDS-PAGE) ۱۵ درصد انجام شد. سپس نمونه‌های موجود در ژل به یک غشای نیتروسلولزی مخصوص منتقل گردید و باندهای پروتئینی دارای برچسب هیستیدین با استفاده از آنتی‌بادی ضد CFP-10 مورد شناسایی قرار گرفت.

جهت بررسی آنتی‌بادی‌های موجود بر علیه آنتی‌ژن CFP-10 از آزمون ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) غیر مستقیم و روش نیمه کمی و به همین منظور از پلیت‌های MaxiSorp™ (شرکت JET BIOFIL کانادا) ۹۶ خانه‌ای استفاده شد. به منظور بهینه‌سازی مراحل آزمون و تعیین بهترین غلظت‌های آنتی‌ژن و آنتی‌بادی، صفحه‌ی آزمون انجام شد. در ابتدا هر کدام از چاهک‌ها با ۱ میکروگرم آنتی‌ژن نوترکیب CFP-10 [در درون ۱۰۰ میکرولیتر بافر کوتینگ (کربنات، بی‌کربنات با pH = ۹/۶)] پوشانده شد و به مدت یک شب در درون یخچال (دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد) انکوبه گردید. سپس چاهک‌ها به وسیله‌ی بافر شستشو [فسفات بافر سالین (Phosphate buffered saline یا PBS) به همراه ۰/۰۵ درصد از توئین (Tween) ۲۰] شسته و در مرحله‌ی بعد به هر کدام از چاهک‌ها ۲۵۰ میکرولیتر بافر مسدود کننده (Skim milk ۳ درصد) افزوده شد. تمام چاهک‌ها بعد از یک ساعت انکوباسیون در دمای اتاق مورد شستشو قرار گرفتند.

نمونه‌های سرمی تهیه شده در دو رقت ۱/۱۰ و ۱/۱۰۰ و به میزان ۱۰۰ میکرولیتر به چاهک‌ها اضافه و به مدت یک ساعت در دمای اتاق انکوبه گردید. بعد از شستشوی مجدد، آنتی‌بادی ضد ایمونوگلوبولین انسانی که با آنزیم پراکسیداز نشان‌دار شده و به میزان ۱/۷۰۰۰ رقیق شده بود، به چاهک‌های تحت آزمایش اضافه شد. پلیت‌های تحت آزمایش دوباره در دمای اتاق و در شرایط تاریکی و به مدت ۱ ساعت انکوبه شدند و پس از شستشوی مجدد، ۱۰۰ میکرولیتر از محلول رنگی تترامتیل بنزیدین (Tetramethylbenzidine یا TMB) به عنوان سوبسترای آنزیم به هر کدام از چاهک‌ها افزوده شد. بعد از ۲۰ دقیقه انکوباسیون در دمای اتاق و در شرایط تاریک، ۱۰۰ میکرولیتر محلول متوقف کننده (اسید سولفوریک رقیق) به چاهک‌ها اضافه گردید تا مراحل واکنش متوقف شود. میزان جذب نوری نمونه‌های موجود در چاهک‌ها با استفاده از دستگاه ELISA reader و در طول موج ۴۵۰ نانومتر خوانده و نقطه‌ی برش (Cutoff)، حساسیت روش و ویژگی روش در رقت ۱/۱۰ و ۱/۱۰۰ تعیین شد.

یافته‌ها

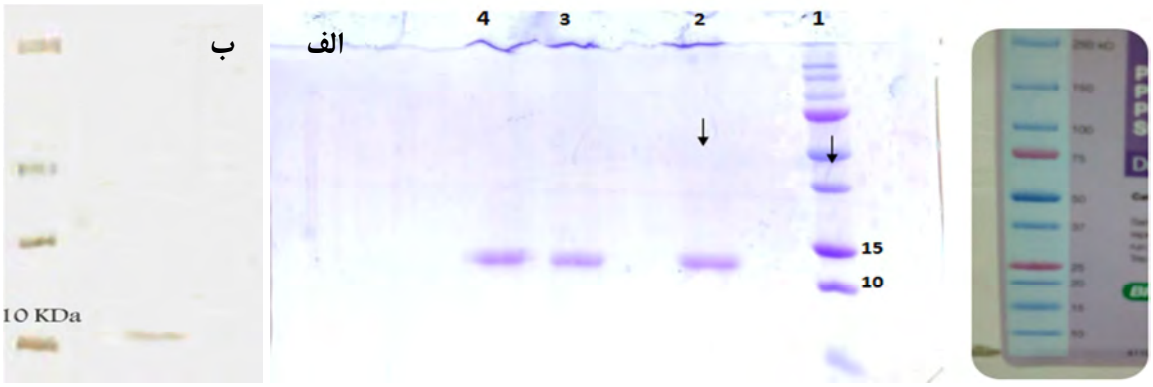
بررسی خصوصیات آنتی‌ژن نوترکیب CFP-10:

آنتی‌ژن CFP-10 نوترکیب استفاده شده در تحقیق حاضر، در میدان الکتریکی و تحت تأثیر آن در

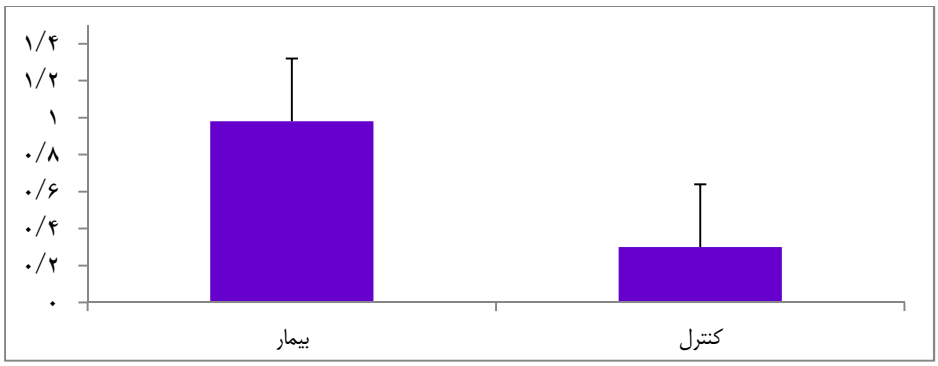
محدوده‌ی تقریبی ۱۲ کیلودالتون قرار گرفت. این آنتی‌ژن به صورت تک باند بود که نشان دهنده‌ی خلوص آن می‌باشد (شکل ۱، الف). پس از انتقال این آنتی‌ژن به غشای نیتروسلولوزی، ناحیه‌ی فوق با آنتی‌بادی ضد CFP-10 واکنش نشان داد که این امر مؤید وجود آنتی‌بادی نوترکیب CFP-10 و دارای برچسب هیستیدین می‌باشد (شکل ۱، ب).

بررسی وجود آنتی‌بادی اختصاصی بر علیه آنتی‌ژن CFP-10: در روش ELISA، از مجموع ۵۱ نمونه‌ی سرم بیماران مبتلا به سل که در مطالعه‌ی حاضر مورد بررسی قرار گرفتند، ۴۷ نمونه در رقت ۱/۱۰ دارای آنتی‌بادی بر علیه CFP-10 بود و در ۳۹ نمونه‌ی سرم افراد سالم، ۳۳ نمونه فاقد آنتی‌بادی بر علیه این آنتی‌ژن بود. همان‌گونه که در شکل‌های ۲ و ۳ مشاهده می‌شود، میانگین جذب نوری نمونه‌های بیماران در هر دو رقت (۱/۱۰ و ۱/۱۰۰) اختلاف معنی‌داری با نمونه‌های گروه شاهد نشان داد ($P < ۰/۰۵$).

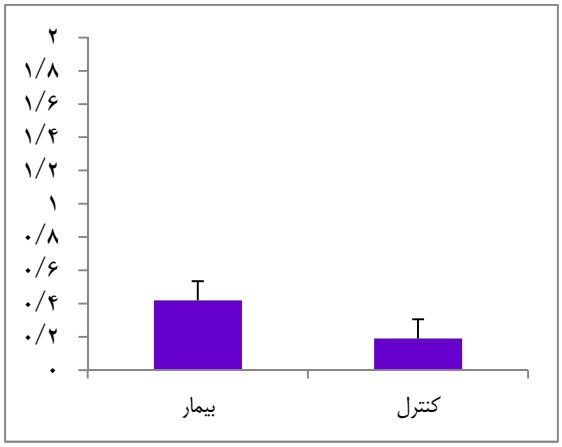
در مقایسه با آزمون میکروسکوپی (مشاهده‌ی مستقیم باکتری)، حساسیت و ویژگی این روش به ترتیب در رقت ۱/۱۰، ۹۲/۱۵ و ۸۴/۶۱ درصد و در رقت ۱/۱۰۰، ۶۴/۷۰ و ۹۷/۴۳ درصد تعیین شد. بر همین اساس نقطه‌ی برش نیز در رقت ۱/۱۰ برابر با ۰/۳۵۱ و در رقت ۱/۱۰۰ برابر با ۰/۲۵۰ تعیین گردید.



شکل ۱. شناسایی و تعیین هویت آنتی‌ژن نوترکیب CFP-10 به وسیله‌ی الکتروفورز در ژل پلی‌آکریلامید
الف: ستون ۱ نشان دهنده‌ی مارکر پروتئینی با اندازه‌های مشخص و ستون ۲، ۳ و ۴ نشان دهنده‌ی آنتی‌ژن CFP-10؛
ب: بررسی الگوی پروتئین نوترکیب CFP-10 در مقابل مارکر پرتئینی با روش Western blot



شکل ۲. میانگین و انحراف استاندارد جذب نوری نمونه‌های تهیه شده از افراد بیمار و شاهد در رقت ۱/۱۰



شکل ۳. میانگین و انحراف استاندارد جذب نوری نمونه‌های تهیه شده از افراد بیمار و شاهد در رقت ۱/۱۰۰

بحث

بیماری سل یکی از مهم‌ترین بیماری‌های عفونی کشنده در جهان است که پیش‌بینی می‌شود تا سال‌های آینده نیز همچنان به عنوان یکی از معضلات مهم بهداشتی جهان باشد (۱). تشخیص قطعی بیماری سل از طریق یافتن باکتری مایکوباکتریوم توبرکلوزیس در نمونه‌های بالینی گرفته شده از بیمار به دست می‌آید. بنابراین سایر بررسی‌ها و آزمون‌های تشخیصی سل به صورت حتمی و قطعی نیست. بررسی‌های مختلف نشان داده‌اند که تشخیص سل بر اساس رادیوگرافی سینه و نتیجه‌ی TST از اهمیت بسیار کمتری برخوردار است (۶).

توبرکولین یک فرآورده‌ی آنتی‌ژنیک از باسیل‌های توبرکلوز می‌باشد. این واکنش نشان دهنده‌ی میزان حساسیت است و میزان مصونیت را نشان نمی‌دهد. همچنین قطر اندوراسیون پوستی حاصل از تزریق عصاره‌ی PPD در بیمار شدت بیماری را نشان نمی‌دهد، بلکه واکنش مثبت PPD ممکن است بیانگر مواردی همچون عفونت طبیعی با مایکوباکتریوم توبرکلوزیس، آلودگی با انواع مختلف مایکوباکتریوم‌های غیر توبرکلوزیس و واکسیناسیون قبلی BCG باشد (۷). بر اساس نتایج مطالعات Harboe (۸) و Huebner و همکاران (۹)، اختصاصیت تست جلدی PPD ضعیف می‌باشد و این به دلیل آنتی‌ژن‌هایی است که نه تنها در PPD وجود دارد، بلکه بین بسیاری از گونه‌های دیگر مایکوباکتریوم از جمله BCG مشترک است.

از مهم‌ترین آنتی‌ژن‌های اختصاصی مایکوباکتریوم توبرکلوزیس که اهمیت فراوانی در جنبه‌های تشخیصی دارد، می‌توان به CFP-10 و ESAT-6 اشاره نمود که در بسیاری از مطالعات استفاده شده (۱۱، ۷، ۵) و به عنوان جایگزین مناسبی به جای PPD مطرح شده‌اند. آنتی‌بادی‌های علیه آنتی‌ژن‌های اختصاصی مایکوباکتریوم توبرکلوزیس مانند CFP-10 می‌توانند به عنوان شاخص بسیار مناسبی در تشخیص سریع و دقیق بیماری سل کارایی داشته باشند. با توجه به این اصل می‌توان تکنیک‌های تشخیصی را طراحی نمود که با ردیابی آنتی‌بادی‌های فوق در نمونه‌های بالینی (به خصوص سرم) بیماران مبتلا به سل، ضمن تشخیص سریع و دقیق بیماری، روش اجرای راحت‌تری نیز داشته باشند. بنابراین با توجه به مشکلات فراوان در روند تشخیص بیماری سل (توبرکلوزیس)، تحقیق حاضر با استفاده از آنتی‌ژن نوترکیب CFP-10، وجود آنتی‌بادی اختصاصی در بیماران را با استفاده از روش ELISA بررسی نمود.

با استفاده از آنتی‌بادی‌های اختصاصی مایکوباکتریوم توبرکلوزیس می‌توان گونه‌ی بیماری‌زا را از سایر انواع غیر بیماری‌زا تشخیص و تمییز داد. علاوه بر این می‌توان سیر بیماری را پیگیری کرد و در درمان از آن استفاده نمود. این اصل توسط محققان

مختلفی در سال‌های اخیر مورد مطالعه قرار گرفته و نتایج بسیار با ارزشی نیز ارایه کرده است. از جمله این مطالعات می‌توان به van Pinxteren و همکاران اشاره نمود که نشان دادند استفاده‌ی ترکیبی از CFP-10 و ESAT-6 ویژگی تشخیص را (بدون از دست دادن حساسیت) توسعه می‌دهد و جایگزینی واقعی برای PPD ارایه می‌کند. در انسان‌ها این ترکیب حساسیت زیادی (۷۳/۰۰ درصد) داشت و از نظر ویژگی حدود ۹۳ درصد نسبت به PPD (۷ درصد) بالاتر بود (۱۰) و با حساسیت و ویژگی مطالعه‌ی حاضر که به ترتیب در رقت ۱/۱۰، ۹۲/۱۵ و ۸۴/۶۱ درصد تعیین شد، همخوانی داشت و جایگزینی واقعی برای PPD بود.

آزمون کوانتی‌فرون (QuantiFERON test یا QFT) بر اساس یافتن اینترفرون گامای آزاد شده از سلول‌های T در شرایط آزمایشگاهی و در برخورد با آنتی‌ژن‌های مایکوباکتریوم توبرکلوزیس انجام می‌شود. این اندازه‌گیری میزان پاسخ سلول‌های T را به دو آنتی‌ژن ESAT-6 و CFP-10 نشان می‌دهد. مطالعات مختلف نشان دهنده‌ی اختصاصی بودن این آزمون جهت مایکوباکتریوم توبرکلوزیس است. سازمان غذا و دارو (Food and Drug Administration یا FDA) در آمریکا و مرکز پیشگیری و کنترل بیماری‌ها (Centers for Disease Control and Prevention یا CDC) انجام QFT در بزرگسالان را به عنوان آزمون کمکی در همه‌ی مناطقی که TST در حال انجام می‌باشد، توصیه کرده است. در کودکان آزمون جلدی از حساسیت کمتری برخوردار است و انجام QFT توصیه می‌شود (۱۱).

Mori و همکاران از آنتی‌ژن ESAT-6 به عنوان روش تشخیص سل در افراد واکسینه شده با BCG استفاده کردند (۱۲). به دلیل نبودن استاندارد صحیح جهت تأیید آزمون‌های جدید برای تشخیص عفونت مایکوباکتریوم توبرکلوزیس، اختصاصیت QFT برای افرادی که با توبرکلوزیس تماس نداشتند، برآورد گردید. حساسیت این آزمون بر اساس داده‌های آماری ۱۱۸ بیمار کشت مثبت که کمتر از یک هفته مورد درمان قرار گرفتند، تخمین زده شد. با استفاده از ترکیب پاسخ‌های CFP-10 و ESAT-6، اختصاصیت آزمون برای افراد با خطر پایین برابر با ۹۸/۱۰ درصد و حساسیت آن برای بیماران آلوده به مایکوباکتریوم توبرکلوزیس، ۸۹/۰۰ درصد تعیین شد. نتیجه این‌که، حساسیت و اختصاصیت آزمون QFT بالا است و تحت تأثیر واکسن BCG قرار نمی‌گیرد (۱۲).

یافته‌های مطالعه‌ی Arend و همکاران بر روی ارزش تشخیصی آنتی‌ژن CFP-10 در روش ELISA جهت شناسایی مایکوباکتریوم توبرکلوزیس تأکید داشت و ویژگی و حساسیت آزمایش‌های انجام شده به ترتیب ۸۴ و ۱۰۰ درصد به دست آمد (۱۳) که با نتایج مطالعه‌ی حاضر مطابقت دارد.

به این ترتیب، نتایج حاصل شده از روش ELISA در بیشتر مطالعات به ویژه در مطالعه‌ی حاضر از حساسیت و ویژگی قابل توجهی برخوردار می‌باشد. با توجه به نتایج به دست آمده از مطالعه‌ی حاضر می‌توان نتیجه‌گیری کرد که پروتئین نوترکیب CFP-10 به علت اختصاصی بودن، گزینه‌ی مناسبی برای تشخیص سل می‌باشد و آنتی‌ژن نوترکیب CFP-10 با استفاده از روش مذکور و آزمون ELISA طراحی شده می‌تواند با دقت قابل قبولی نمونه‌های افراد بیمار را از افراد سالم تشخیص و تمییز دهد.

یکی از نکات قابل توجه در مطالعه، همخوانی مستقیم تیتر آنتی‌بادی اختصاصی بر علیه CFP-10 با سیر بیماری بود.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از زحمات جناب آقای دکتر پیام طبرسی قائم مقام مرکز تحقیقات سل بالینی و اپیدمیولوژی بیمارستان مسیح دانشوری جهت هماهنگی درجهت تهیه نمونه‌های بیماران و آقایان دکتر نادر مصوری و مهدی مهدوی جهت راهنمایی‌های علمی آن‌ها تشکر و قدردانی می‌گردد.

References

1. Crowley L. An introduction to human disease: pathology and pathophysiology correlations. 8th ed. Sudbury, MA: Jones and Bartlett Learning; 2010.
2. Mustafa AS. Mycobacterial gene cloning and expression, comparative genomics, bioinformatics and proteomics in relation to the development of new vaccines and diagnostic reagents. Med Princ Pract 2005; 14(Suppl 1): 27-34.
3. Brodin P, Rosenkrands I, Andersen P, Cole ST, Brosch R. ESAT-6 proteins: protective antigens and virulence factors? Trends Microbiol 2004; 12(11): 500-8.
4. Hill PC, Jackson-Sillah D, Fox A, Franken KL, Lugos MD, Jeffries DJ, et al. ESAT-6/CFP-10 fusion protein and peptides for optimal diagnosis of mycobacterium tuberculosis infection by ex vivo enzyme-linked immunospot assay in the Gambia. J Clin Microbiol 2005; 43(5): 2070-4.
5. Porsa E, Cheng L, Seale MM, Delclos GL, Ma X, Reich R, et al. Comparison of a new ESAT-6/CFP-10 peptide-based gamma interferon assay and a tuberculin skin test for tuberculosis screening in a moderate-risk population. Clin Vaccine Immunol 2006; 13(1): 53-8.
6. Kaufmann SHE, Rubin E. Handbook of tuberculosis: molecular biology and biochemistry. Weinheim, Germany: Wiley VCH; 2008.
7. Ravn P, Munk ME, Andersen AB, Lundgren B, Lundgren JD, Nielsen LN, et al. Prospective evaluation of a whole-blood test using Mycobacterium tuberculosis-specific antigens ESAT-6 and CFP-10 for diagnosis of active tuberculosis. Clin Diagn Lab Immunol 2005; 12(4): 491-6.
8. Harboe M. Antigens of PPD, old tuberculin, and autoclaved Mycobacterium bovis BCG studied by crossed immunoelectrophoresis. Am Rev Respir Dis 1981; 124(1): 80-7.
9. Huebner RE, Schein MF, Bass JB, Jr. The tuberculin skin test. Clin Infect Dis 1993; 17(6): 968-75.
10. van Pinxteren LA, Ravn P, Agger EM, Pollock J, Andersen P. Diagnosis of tuberculosis based on the two specific antigens ESAT-6 and CFP10. Clin Diagn Lab Immunol 2000; 7(2): 155-60.
11. Mazurek GH, Jereb J, Lobue P, Iademarco MF, Metchock B, Vernon A. Guidelines for using the QuantiFERON-TB Gold test for detecting Mycobacterium tuberculosis infection, United States. MMWR Recomm Rep 2005; 54(RR-15): 49-55.
12. Mori T, Sakatani M, Yamagishi F, Takashima T, Kawabe Y, Nagao K, et al. Specific detection of tuberculosis infection: an interferon-gamma-based assay using new antigens. Am J Respir Crit Care Med 2004; 170(1): 59-64.
13. Arend SM, Andersen P, van Meijgaarden KE, Skjot RL, Subronto YW, van Dissel JT, et al. Detection of active tuberculosis infection by T cell responses to early-secreted antigenic target 6-kDa protein and culture filtrate protein 10. J Infect Dis 2000; 181(5): 1850-4.

Journal of Isfahan Medical School Received: 15.10.2014

Vol. 32, No. 315, 4th Week, February 2015 Accepted: 09.01.2015

Evaluation of Specific Antibody against Recombinant CFP-10 Protein of Mycobacterium Tuberculosis in Patients with Tuberculosis

Mina Karami MSc[1], Majid Tebianian PhD[2]

Original Article

Abstract

Background: Tuberculosis (TB) has been remained as a major health problem. The most commonly used diagnostic tool for TB is a simple skin test. However, it has some disadvantages and it`s specificity can be compromised. Hence, detection of Mycobacterium tuberculosis specific antibodies in human sera has been considered as an important diagnostic test.

Methods: In this study, humoral immune responses against recombinant CFP-10 protein of Mycobacterium tuberculosis in 51 patients with TB and 39 healthy subjects were evaluated using indirect enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

Findings: From 51 positive serum samples, 47 were positive and from 39 negative serum samples, 33 showed negative results. In this study, sensitivity and specificity of test were 92.15, 84.61 percent for dilution of 1:10 and 64.70 and 97.43 percent for dilution of 1:100, respectively. Accordingly, the estimated cut-off point was 0.351 and .025 for dilutions of 1:10 and 1:100, respectively.

Conclusion: Our data suggested that the levels of antibodies against CFP-10 antigens in patients with TB were significantly higher than those in healthy subjects. This study demonstrated that ELISA with the use of the CFP-10 recombinant antigens is simple and sensitive and can be used to analyze large numbers of samples for the serodiagnosis of TB.

Keywords: Tuberculosis, CFP-10, Recombinant Protein, Antibody

Citation: Karami M, Tebianian M. **Evaluation of Specific Antibody against Recombinant CFP-10 Protein of Mycobacterium Tuberculosis in Patients with Tuberculosis.** J Isfahan Med Sch 2015; 32(315): 2226-33

1- Department of Microbiology, School of Advanced Sciences and Technology, Pharmaceutical Sciences Branch, Islamic Azad University (IAUPS),Tehran, Iran
2- Assistant Professor, Department of Biotechnology, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Karaj, Iran
Corresponding Author: Majid Tebianian PhD, Email: mtebianian@yahoo.com

مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و دوم/شماره ۳۱۵/هفته چهارم بهمن ماه ۱۳۹۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۷/۱۶
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۰/۲۴

تشخیص بروسلوز به وسیله‌ی سیستم کشت خون BACTEC

دکتر منصوره مومن هروی[۱]، مه‌زاد ارمی[۲]، حسن کوشا[۳]، فاطمه عشرت آبادی[۴]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: بروسلوز یک بیماری عفونی زئونوز و آندمیک در ایران می‌باشد. تشخیص قطعی بیماری بر جداسازی بروسلا از خون یا سایر نمونه‌های بالینی استوار است که با توجه به سخت رشد بودن این ارگانیسم و مشکلات جداسازی آن در روش‌های متداول، به صورت فراگیر انجام نمی‌شود. با توجه به شیوع بالای بیماری در کاشان و مشکلات تشخیصی آن، در این مطالعه از سیستم کشت خون BACTEC۹۰۵۰ جهت تشخیص باکتریمی بروسلایی استفاده شد و مزایای این روش مورد بررسی قرار گرفت.

روش‌ها: در این مطالعه‌ی توصیفی در بیمارستان شهید بهشتی کاشان، نمونه‌های ۲۰۶ فرد مشکوک به بروسلوز، در محیط BHI broth (Brain-Heart infusion broth) و در سیستم کشت خون BACTEC۹۰۵۰ به طور هم‌زمان بررسی شد.

یافته‌ها: در محدوده‌ی زمانی ۵ روز، از ۲۰۶ نمونه، ۵۰ مورد کشت از نظر بروسلا مثبت شد که از این تعداد، ۳۲ مورد به هر دو روش و ۱۸ مورد تنها در روش BACTEC مثبت بود. با ادامه‌ی انکوباسیون، ۱۴ مورد مثبت گردید اما ۴ مورد از کشت‌ها، حتی پس از ۳۰ روز انکوباسیون، باز هم منفی بود. مدت انکوباسیون مورد نیاز جهت مثبت شدن نمونه‌ها به طور متوسط ۴ روز بود.

نتیجه‌گیری: سیستم کشت BACTEC باعث کوتاه شدن فرایند انجام آزمایش و صرفه‌جویی در وقت و مواد مصرفی می‌شود. در صورت عدم دسترسی به این سیستم در تشخیص بروسلا، توصیه می‌گردد، آخرین نمونه جهت بررسی بیشتر، به مدت یک ماه در ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شود.

واژگان کلیدی: بروسلوز، کشت خون، روش BACTEC

ارجاع: مومن هروی منصوره، ارمی مه‌زاد، کوشا حسن، عشرت آبادی فاطمه. **تشخیص بروسلوز به وسیله‌ی سیستم کشت خون BACTEC**. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۳۱۵): ۲۲۴۰-۲۲۳۴

مقدمه

بروسلوز انسانی یکی از مهم‌ترین بیماری‌های مشترک بین انسان و حیوان است که شیوع جهانی دارد. این بیماری در بسیاری از نقاط آسیا از جمله ایران، آندمیک می‌باشد. با وجود این‌که تعداد کشورهای پاک‌سازی شده از نظر بروز بروسلوز در حال افزایش است، اما این بیماری زئونوز هنوز هم یکی از شایع‌ترین بیماری‌های عفونی در بسیاری از نواحی مانند ایران، هند، خاورمیانه، جنوب اروپا و آمریکای لاتین محسوب می‌شود (۲-۱). عامل بیماری بروسلوز، نوعی باکتری دیر رشد متعلق به جنس بروسلا و به شکل کوکوباسیل گرم منفی کوچک و

۱- دانشیار، گروه عفونی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران
۲- کارشناس ارشد قارچ شناسی پزشکی، بیمارستان شهید بهشتی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران
۳- بیمارستان شهید بهشتی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران
۴- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه تحقیق و تولید واکسن‌های ویروسی طیور، مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، کرج، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: مه‌زاد ارمی
Email: erami_m@yahoo.com

بدون اسپور و کپسول می‌باشد (۳). مهم‌ترین راه‌های انتقال بیماری به انسان شامل تماس مستقیم با محصولات آلوده به ارگانیسم و مصرف شیر و محصولات لبنی غیر پاستوریزه‌ی تهیه شده از حیوان مبتلا به بروسلوز است (۵-۴).

باکتریمی از یافته‌های بالینی غیر منتظره در بروسلوز انسانی است که فراوانی آن نامشخص، اما قابل تخمین می‌باشد و به عنوان یکی از اورژانس‌های عفونی مطرح می‌گردد (۷-۶). تشخیص قطعی بروسلوز بر جداسازی ارگانیسم از خون یا سایر نمونه‌های بالینی استوار است. کشت و جداسازی بروسلا به روش‌های قدیمی و متداول در آزمایشگاه به دلیل سخت رشد بودن این باکتری، علاوه بر این‌که بسیار مشکل است، به مدت زمان انکوباسیون طولانی (حدود ۳۰ روز) و تجدید کشت‌های (Subculture) دوره‌ای منظم نیاز دارد (۸). مطالعات زیادی نشان داده است که کاربرد سیستم‌های اتوماتیک کشت خون BACTEC بسیاری از این مشکلات را هموار می‌نماید. این سیستم تا حد زیادی از اثرات مداخله‌گر آنتی‌بیوتیک‌ها ممانعت می‌کند و جهت جداسازی باکتری به مدت زمان انکوباسیون کوتاه‌تری نیاز دارد (۱۰-۸). با توجه به شیوع بالای بروسلوز در کاشان و عدم کاربرد کشت خون با سیستم BACTEC در تشخیص بروسلوز تاکنون، این مطالعه با هدف بررسی قدرت تشخیصی و مزایای کاربرد سیستم اتوماتیک کشت خون BACTEC جهت تشخیص باکتریمی بروسلایی در بیمارستان شهید بهشتی کاشان انجام گردید.

روش‌ها

در مطالعه‌ی توصیفی حاضر، ۲۰۶ فرد مشکوک به بروسلوز که توسط پزشکان جهت انجام آزمایش آگلوتیناسیون بروسلوز به آزمایشگاه بیمارستان شهید بهشتی ارجاع شده بودند، مورد بررسی قرار گرفتند. پس از توجیه و کسب رضایت از بیماران، علاوه بر نمونه‌ی خون مورد نیاز برای انجام آزمایش‌های آگلوتیناسیون بروسلوز، حدود ۱۵-۱۰ میلی‌لیتر خون جهت تلقیح به دو محیط کشت BHI broth (Brain-Heart infusion broth) و Bactec Plus Aerobic/F به طور هم‌زمان و با رعایت اصول استاندارد نمونه‌گیری از افراد اخذ گردید. محیط BHI در انکوباتور ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد و محیط Bactec Plus Aerobic/F در دستگاه BACTEC۹۰۵۰ ساخت کشور آمریکا قرار داده شد. مدت زمان انکوباسیون که بر اساس نوع محیط کشت مورد استفاده توسط دستگاه تعریف می‌گردد، ۷ روز در نظر گرفته شد. موارد منفی پس از این مدت زمان، ثبت و نمونه از ادامه مراحل مطالعه حذف گردید و نمونه‌های مثبت اعلام شده توسط دستگاه بر روی دو سری محیط شکلات آگار (Chocolate agar) پاساژ داده شد. یک گروه در شرایط اتمسفر و گروه دیگر در ۱۰-۵ درصد دی‌اکسید کربن انکوبه گردید و بیش از ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار گرفت. کلنی‌های رشد کرده از لحاظ شکل، رنگ‌آمیزی گرم، تست اوره‌آز، کاتالاز و اکسیداز بررسی شدند. جهت بررسی کشت‌های BHI broth نیز مانند سایر کشت‌های متداول، نمونه در سه نوبت در زمان‌های ۲۴، ۷۲ و ۱۲۰ ساعت انکوباسیون، کشت مجدد داده شد.

نتایج کشت‌های منفی پس از ۱۰ روز نگهداری در محیط کشت، ثبت و آخرین محیط کشت داده

شده جهت بررسی در مدت زمان بیشتر به مدت سه هفته دیگر در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد. در مورد باکتری رشد نموده در کشت‌های مجدد مثبت جهت تشخیص بروسلا، مانند آنچه در مورد کشت مثبت BACTE شرح داده شد، عمل گردید. در کشت‌های مثبت هر دو روش، زمان رشد باکتری و مثبت شدن کشت ثبت شد.

یافته‌ها

در مطالعه‌ی حاضر ۲۰۶ نمونه‌ی خون افراد مشکوک به بروسلوز به هر دو روش کشت متداول و سیستم کشت خون اتوماتیک مورد بررسی قرار گرفت که ۵۰ مورد از کشت‌های خون مثبت و ۱۵۶ مورد منفی بودند. در ۳۲ مورد نتیجه‌ی کشت در هر دو روش مثبت و در ۱۸ مورد کشت BACTE مثبت، اما کشت معمولی در محدوده‌ی زمانی ۵ روز منفی بود. با ادامه‌ی انکوباسیون، رشد بروسلا در ۱۱ مورد از روز ششم، در ۲ مورد از روز دهم و در ۱ مورد از روز بیست و پنجم شروع گردید و در ۴ مورد کشت پس از سی روز انکوباسیون باز هم منفی به دست آمد. در مطالعه‌ی حاضر حساسیت کشت BACTE ۳۶ درصد، ویژگی آن ۹۶ درصد، ارزش اخباری مثبت ۹۴ درصد و ارزش اخباری منفی ۴۶ درصد محاسبه شد. زمان مثبت شدن ۵۰ نمونه در محیط کشت BACTE به ترتیب عبارت از سه مورد ۵ روزه، سه مورد ۳ روزه، دو مورد ۲ روزه، دو مورد ۶ روزه و چهل مورد ۴ روزه بود. بنابراین زمان انکوباسیون مورد نیاز جهت مثبت شدن نمونه‌ها به طور متوسط ۴ روز بود.

بحث

در مطالعه‌ی حاضر جهت کشت نمونه‌ها از هر دو روش کشت متداول و سیستم کشت خون BACTEC۹۰۵۰ استفاده شد. در سیستم کشت خون BACTEC از تکنولوژی فلوئورسنت بهره گرفته می‌شود. در هر شیشه‌ی کشت خون، یک گیرنده‌ی دی‌اکسید کربن قرار دارد که نسبت به یون‌های مواد محیط کشت و خون غیر قابل نفوذ می‌باشد، اما دی‌اکسید کربن به آسانی در آن نفوذ می‌کند. اگر ارگانیسمی در محیط وجود داشته باشد، دی‌اکسید کربن تولید می‌کند که در ماتریکس این گیرنده منتشر شده، یون هیدروژن ایجاد می‌گردد و pH کاهش می‌یابد. این تغییر موجب افزایش فلورسانس گیرنده و تغییر علایم منتقل شده به اجزای اپتیک و الکترونیک دستگاه می‌شود و زنگ هشدار (Alarm) دستگاه به کار می‌افتد.

فلورسانس (Fluorescence) موجود در سیستم BACTEC دی‌اکسید کربن آزاد شده‌ی ناشی از رشد میکروب را هر ۱۰ دقیقه اندازه‌گیری می‌کند، بنابراین احتمال جداسازی ارگانیسم‌های بیماری‌زا را افزایش می‌دهد. این روش شاید به علت دارا بودن محیط هوازی و بی‌هوازی، سانتریفوژ دستگاه و رزین جهت کاهش اثر آنتی‌بیوتیک‌ها از نظر سرعت و حساسیت به روش معمولی برتری داشته باشد و احتمال جداسازی را افزایش دهد. بنابراین تشخیص سریع عفونت و نوع ارگانیسم عامل آن در شروع زودرس آنتی‌بیوتیک مناسب نقش اساسی خواهد داشت (۱۲-۱۰).

در مطالعه‌ی Akcam و همکاران، ۹۰۶ نمونه‌ی خون در دو محیط BACTEC و معمولی کشت داده شد. ۱۳۹ مورد (۱۵/۳ درصد) از نمونه‌ها در هر دو

محیط کشت مثبت شدند؛ در حالی که ۸۰ مورد (۸/۸ درصد) فقط توسط سیستم BACTEC مثبت شدند (۱۳) که نتایج با مطالعه‌ی حاضر همخوانی داشت.

Ayaslioglu و همکاران در مطالعه‌ی گذشته‌نگر خود، ۶۰ بیمار را با استفاده از سیستم کشت خون BACTEC۹۰۵۰ مورد بررسی قرار دادند. در ۳۱ نمونه‌ای که کشت خون آن‌ها به صورت دوتایی و هم‌زمان گرفته شد، ۲۶ مورد و در ۲۹ نمونه که یک کشت خون از بیمار گرفته شد، ۱۷ مورد بروسلا جدا گردید. ۸۴/۱ درصد ایزوله‌ها طی ۷ روز انکوباسیون جدا شدند. کوتاه‌ترین زمان جداسازی ۳ روز بود که در دو ایزوله گزارش گردید و ۸ مورد کشت BACTEC را پس از ۳۰ روز انکوباسیون مثبت نشان دادند (۱۰)؛ در حالی که در مطالعه‌ی حاضر زمان انکوباسیون جهت مثبت شدن ۵۰ نمونه به طور متوسط ۴روز بود.

با توجه به این‌که بعضی از سویه‌های بروسلا در مطالعه‌ی Ayaslioglu و همکاران پس از انکوباسیون ۷ روزه در محیط BACTEC مثبت شدند (۱۰)، می‌توان نتیجه گرفت که زمان انکوباسیون ۷-۵ روز که در پروتکل راهنمای دستگاه BACTEC۹۰۵۰ ارایه گردیده است، جهت جداسازی سویه‌های بروسلا مناسب نیست و مدت زمان انکوباسیون به منظور جداسازی این باکتری دیر رشد باید افزایش یابد. همچنین بر اساس یافته‌های پژوهش Ayaslioglu و همکاران، انجام کشت خون به صورت دوتایی نیز احتمال جداسازی بروسلا را افزایش می‌دهد (۱۰) و شاید در مطالعه‌ی حاضر با افزایش زمان انکوباسیون و همچنین انجام کشت خون دوتایی، تعداد نتایج منفی کاذب بروسلا کاهش یا نتایج مثبت واقعی بروسلا افزایش می‌یافت.

حساسیت کشت BACTEC در مطالعه‌ی حاضر ۳۶ درصد، ویژگی آن ۹۶ درصد، ارزش اخباری مثبت ۹۳ درصد و ارزش اخباری منفی ۴۶ درصد محاسبه شد. در تحقیق مالک‌نژاد و همکاران از سیستم کشت BACTEC و دستگاه مدل ۹۱۲۰ برای کشت خون بیماران استفاده گردید که حساسیت کشت BACTEC در آن برابر با ۴۲/۲ درصد بود (۱۴) و نسبت به مطالعه‌ی حاضر بیشتر می‌باشد. چندین توجیه برای کمتر بودن این میزان وجود دارد؛ اول این‌که ممکن است برخی از افراد مشکوک در فاز مزمن بیماری قرار داشته باشند که جداسازی ارگانیسم در این مرحله مشکل است. دوم این‌که اثر مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها ممکن است باعث کم شدن احتمال جداسازی ارگانیسم شده باشد. شاید تفاوت در نوع دستگاه و سیستم انکوباسیون اتوماتیک یا نوع محیط‌های مورد استفاده را نیز بتوان از دلایل این اختلاف دانست.

در مطالعه‌ی Iseri و همکاران ارزش تشخیصی بروسلوز در نمونه‌ی خون و مغز استخوان با کاربرد سیستم کشت خون BACTEC۹۰۵۰ مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت. مدت زمان مثبت شدن در نمونه‌های مغز استخوان و خون به ترتیب ۴ و ۶ روز بود. از ۱۰۲ بیمار مورد بررسی، ۴۹ مورد (۴۸/۰ درصد) کشت خون و ۳۵ مورد (۳۴/۳ درصد) کشت مغز استخوان مثبت بود که این تفاوت از لحاظ آماری قابل توجه است. همچنین ۴۰ مورد (۶۶/۰ درصد) کشت خون و ۲۸ مورد (۴۶/۰ درصد) کشت مغز استخوان مثبت، در موارد بروسلوز حاد

مثبت بود. نتایج کلی حاکی از پایین بودن میزان کشت خون مثبت در بروسلوز مزمن شده می‌باشد (۱۵). بنابراین برای تشخیص قطعی بروسلوز در این بیماران، کشت نمونه‌ی مغز استخوان توصیه می‌گردد.

تمام نمونه‌های مورد بررسی در مطالعه‌ی حاضر از نوع کشت خون بودند و امکان مقایسه با نمونه‌ی مغز استخوان وجود نداشت. جهت مقایسه در این زمینه، انجام مطالعه‌ی تکمیلی با نمونه‌ی مغز استخوان توصیه می‌گردد.

Cetin و همکاران مقایسه‌ای بین روش BACTEC و روش متداول در آزمایشگاه برای تشخیص عوامل عفونی در مایعات استریل بدن انجام دادند. نتایج حاکی از آن بود که گونه‌های بروسلا در مایعات استریل فقط در کشت BACTEC قابل تشخیص می‌باشند (۱۶). لازم به ذکر است که در مطالعه‌ی حاضر باکتری بروسلا در ۲ مورد از مایع مغزی نخاعی (Cerebrospinal fluid یا CSF) و ۲ مورد از مایع مفصل بیماران (Synovial) در محیط BACTEC جدا شد و با بررسی‌های بالینی صورت گرفته، ۲ مورد نوروبروسلوز (Neurobrucellosis) و ۲ مورد آرتریت بروسلایی گزارش گردید که در کشت معمولی و محیط BHI در طی ۷ روز انکوباسیون منفی بود. بنابراین جهت بررسی CSF و مایع مفصلی در موارد مشکوک به نوروبروسلوز و آرتریت بروسلایی، استفاده از سیستم کشت خون BACTEC به جای روش معمولی برای افزایش حساسیت تشخیص ارجحیت دارد. در نتیجه انجام مطالعه‌ی مشابهی بر روی مایعات استریل بدن توصیه می‌گردد.

Al-Attas و همکاران در تحقیق خود از سه روش PCR (Polymerase chain reaction)، کشت در محیط BACTEC و سرولوژی در تشخیص بروسلوز حاد انسانی استفاده کردند. ۱۷ مورد خون بیماران مبتلا به بروسلوز قبل از شروع درمان آزمایش شد و در همه‌ی آن‌ها تیتر آنتی‌بادی ضد بروسلا در روش سرولوژی بالا بود. در ۸ مورد کشت خون BACTEC مثبت و در ۱۴ مورد آزمایش PCR مثبت بود.

نتیجه‌ی مطالعه‌ی Al-Attas و همکاران نشان داد که PCR روشی سریع و مطمئن با حساسیت و ویژگی بالا در تشخیص بروسلوز می‌باشد، اما برای ارزیابی و تشخیص افراد بدون علامت، روش متداول در آزمایشگاه به همراه PCR به عنوان روش تکمیلی توصیه می‌گردد؛ ضمن این که پیگیری (Follow up) بیمار به روش سرولوژی و کشت انجام می‌شود (۱۷).

نتیجه‌گیری

استفاده از روش اتوماتیک کشت خون BACTEC به دلیل عدم نیاز به کشت‌های مجدد دوره‌ای، ضمن این‌که فرایند انجام آزمایش را کوتاه می‌نماید و باعث صرفه‌جویی در وقت، محیط کشت و مواد مصرفی می‌شود، باعث ارایه‌ی جواب آزمایش به بیمار در کوتاه‌ترین زمان و در نتیجه شروع به موقع اقدامات درمانی در مرحله‌ی اولیه بیماری می‌گردد. در مورد نمونه‌های مشکوک به بروسلا مواقعی که دسترسی به سیستم‌های اتوماتیک کشت امکان ندارد، توصیه بر آن است که کشت مجدد انجام شده در شکلات آگار حداقل به مدت ۱۰ روز و حداکثر یک ماه در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد جهت بررسی بیشتر نگهداری گردد و از گزارش نتیجه‌ی منفی در کمتر از مدت زمان مذکور پرهیز شود.

تشکر و قدردانی

از تمام کارکنان آزمایشگاه تشخیص طبی بیمارستان شهید بهشتی کاشان به خصوص بخش میکروب شناسی که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند، تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

References

1. Pathak AD, Dubal ZB, Doijad S, Raorane A, Rodrigues S, Naik R, et al. Human brucellosis among pyrexia of unknown origin cases and occupationally exposed individuals in Goa Region, India. Emerg Health Threats J 2014; 7: 23846.
2. Sathyanarayanan V, Razak A, Saravu K, Ananthakrishna SB, Mukhyprana PM, Vandana KE. Clinical profile of brucellosis from a tertiary care center in southern India. Asian Pac J Trop Med 2011; 4(5): 397-400.
3. Bannatyne RM, Jackson MC, Memish Z. Rapid diagnosis of Brucella bacteremia by using the BACTEC 9240 system. J Clin Microbiol 1997; 35(10): 2673-4.
4. Corbel MJ. Brucellosis in humans and animals. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2006. p. 1-3.
5. Mantur BG, Biradar MS, Bidri RC, Mulimani MS, Veerappa, Kariholu P, et al. Protean clinical manifestations and diagnostic challenges of human brucellosis in adults: 16 years' experience in an endemic area. J Med Microbiol 2006; 55(Pt 7): 897-903.
6. Pappas G, Akritidis N, Bosilkovski M, Tsianos E. Brucellosis. N Engl J Med 2005; 352(22): 2325-36.
7. Mantur BG, Mulimani MS, Bidari LH, Akki AS, Tikare NV. Bacteremia is as unpredictable as clinical manifestations in human brucellosis. Int J Infect Dis 2008; 12(3): 303-7.
8. Yagupsky P. Detection of Brucella melitensis by BACTEC NR660 blood culture system. J Clin Microbiol 1994; 32(8): 1899-901.
9. Baysallar M, Aydogan H, Kilic A, Kucukkaraaslan A, Senses Z, Doganci L. Evaluation of the BacT/ALERT and BACTEC 9240 automated blood culture systems for growth time of Brucella species in a Turkish tertiary hospital. Med Sci Monit 2006; 12(7): BR235-BR238.
10. Ayaslioglu E, Kilic D, Kaygusuz S, Kucuk S, Ceken S, Erol O, et al. The detection of Brucella spp by BACTEC 9050 blood culture system. Mikrobiyol Bul 2004; 38(4): 415-9. [In Turkish].
11. Barati M, Noorbakhsh S, Bageri Hoseini H, Mortazavi HR. BACTEC medium: a useful method for detection of microorganisms in sterile body fluids. Tehran Univ Med J 2008; 66(5): 305-10. [In Persian].
12. Maleknejad P, Peeri-DoGaheh H, Amir Zargar AA, Jafari S, Fatollahzadeh B. Diagnosis of brucellosis by use of BACTEC blood culture and confirmation by PCR. J Vet Res 2007; 62(4): 83-6.
13. Akcam FZ, Yayli G, Uskun E, Kaya O, Demir C. Evaluation of the BACTEC microbial detection system for culturing miscellaneous sterile body fluids. Res Microbiol 2006; 157(5): 433-6.
14. Maleknejad P, Hashemi FB, Fatollahzadeh B, Jafari S, Peeri Dogaheh H. Direct urease test and acridine orange staining on BACTEC blood culture for rapid presumptive diagnosis of brucellosis. Iran J Public Health 2005; 34(3): 52-5.
15. Iseri S, Bulut C, Yetkin MA, Kinikli S, Demiroz AP, Tulek N. Comparison of the diagnostic value of blood and bone marrow cultures in brucellosis. Mikrobiyol Bul 2006; 40(3): 201-6. [In Turkish].
16. Cetin ES, Kaya S, Demirci M, Aridogan BC. Comparison of the BACTEC blood culture system versus conventional methods for culture of normally sterile body fluids. Adv Ther 2007; 24(6): 1271-7.
17. Al-Attas RA, Al-Khalifa M, Al-Qurashi AR, Badawy M, Al-Gualy N. Evaluation of PCR, culture and serology for the diagnosis of acute human brucellosis. Ann Saudi Med 2000; 20(3-4): 224-8.

Journal of Isfahan Medical School
Received: 08.10.2014
Vol. 32, No. 315, 4th Week, February 2015
Accepted: 14.01.2015

Diagnosis of Brucellosis via BACTEC Blood Culture System

Mansoureh Momen-Heravi MD[1], Mahzad Erami MSc[2], Hasan Kosha[2], Fatemeh Eshratabadi[3]

Original Article

Abstract

Background: Brucellosis is a zoonosis infectious disease and endemic in Iran. The certain diagnosis of disease is established on isolation of brucella from blood and other clinical samples. So, because of fastidious nature of this organism and problems in its isolation by conventional methods, and attending to the high prevalence of brucellosis in Kashan, Iran, the BACTEC9050 blood culture system was used in this survey for diagnosis of brucella bacteremia; advantages of this method has been discussed, too.

Methods: In this descriptive research, the blood samples of 206 patients suspected to brucellosis were studied in Brain-Heart Infusion (BHI) broth and BACTEC9050 blood culture system simultaneously.

Findings: In a period of 5 days, from 206 samples, totally 50 cases were positive; 32 cases were positive in both methods and 18 cases were positive only in BACTEC method. Continuing the incubation, 14 cases became positive but 4 cases were negative, even after 30 days of incubation. The average incubation period for specimens to become positive was 4 days.

Conclusion: The BACTEC automatic system reduced the examination process, and economized the time and the material. In cases that this system is not available for diagnosis of brucella, it is recommended to keep the final subcultures in 37 ℃ for 1 month to get better diagnostic results.

Keywords: Brucellosis, Blood culture, BACTEC method

Citation: Momen-Heravi M, Erami M, Kosha H, Eshratabadi F. **Diagnosis of Brucellosis via BACTEC Blood Culture System.** J Isfahan Med Sch 2015; 32(315): 2234-40

1- Associate Professor, Department of Infectious Diseases, School of Medicine, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran
2- Shahid Beheshti Hospital, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran
3- MSc Student, Department of Research and Production of Poultry Viral Vaccine, Razi Vaccine and Serum Producing Research Institute, Karaj, Iran
Corresponding Author: Mahzad Erami MSc, Email: erami_m@yahoo.com

مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و دوم/شماره ۳۱۵ /هفته چهارم بهمن ماه ۱۳۹۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۹/۴
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۱/۴

بررسی اپیدمیولوژی لیشمانیوز جلدی در استان اصفهان در طی سال‌های ۹۰-۱۳۸۰

دکتر محمد علی نیلفروش زاده[۱]، لیلا شیرانی بیدآبادی[۲]، دکتر سید محسن حسینی[۳]، دکتر رضا فدایی نوبری[۴]، دکتر فریبا جعفری[۵]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: استان اصفهان از کانون‌های قدیمی لیشمانیوز جلدی، به ویژه نوع روستایی یا مرطوب آن (Zoonotic cutaneous leishmaniasis) می‌باشد. با توجه به فقدان اطلاعات کافی در مورد اپیدمیولوژی و شیوع بیماری در استان، انجام این تحقیق لازم به نظر می‌رسید.

روش‌ها: اطلاعات از طریق پرونده‌ی بیماران ثبت شده در مرکز بهداشت استان جمع‌آوری گردید. داده‌های حاصل از نمونه‌ی مستقیم میکروسکوپی تهیه شده توسط آزمایشگاه‌های تشخیص سالک مرکز تحقیقات بیماری‌های پوستی و سالک و مراکز بهداشتی دیگر و مشخصات فردی، تعداد و محل زخم، مدت ابتلا، محل سکونت، محل کار و سابقه‌ی مسافرت در ۲ ماه گذشته جمع‌آوری شد. بر اساس اطلاعات موجود در پرونده‌ها، وضعیت اپیدمیولوژیک بیماری در کل استان مشخص گردید.

یافته‌ها: از ۲۸۳۱۵ بیمار مبتلا به لیشمانیوز در طی سال‌های ۹۰-۱۳۸۰ در کل استان اصفهان، ۱۰۸۰۹ مورد (۳۸/۲ درصد) زن و ۱۷۴۹۱ مورد (۶۱/۸ درصد) مرد بودند. میانگین سنی مبتلایان ۱۶/۵۲ ± ۲۲/۴۰ سال بود. به تفکیک محل زخم، ضایعه‌ی صورت ۱۲/۱، دست و پا ۱۲/۳، صورت و دست‌ها ۴/۵، صورت و دست و پاها ۱/۴، پاها ۲۴/۱، دست‌ها ۳۲/۳ درصد را به خود اختصاص داد و محل آلودگی در ۱۱/۵ درصد غیر از صورت، دست‌ها و پاها بود. تعداد ضایعات روی بدن بیماران بین ۱ تا بیش از ۳ زخم بود. در بین مبتلایان، ۱۲۱۶۳ نفر (۴۳/۰ درصد) یک زخم، ۶۳۳۰ نفر (۲۲/۴ درصد) دو زخم، ۵۰۳ نفر (۱/۸ درصد) سه زخم و ۸۰۰۸ نفر (۲۸/۳ درصد) بیشتر از سه زخم داشتند. ۱۷۸۸۳ نفر از بیماران (۶۳/۲ درصد) در مناطق شهری و ۸۲۴۱ نفر (۲۹/۱ درصد) در مناطق روستایی سکونت داشتند.

نتیجه‌گیری: شیوع سالک در استان اصفهان بالا بوده، مبارزه با مخزن و ناقل بیماری در منطقه ضروری می‌باشد. روند به نسبت متغیر بیماری در سال‌های مختلف، نشان دهنده‌ی آندمیک بودن استان اصفهان نسبت به این بیماری است و مطالعات اپیدمیولوژیک وسیع‌تری پیشنهاد می‌گردد.

واژگان کلیدی: لیشمانیوز جلدی، اپیدمیولوژی، شیوع، اصفهان، ایران

ارجاع: نیلفروش زاده محمد علی، شیرانی بیدآبادی لیلا، حسینی سید محسن، فدایی نوبری رضا، جعفری فریبا. **بررسی اپیدمیولوژی لیشمانیوز جلدی در استان اصفهان در طی سال‌های ۹۰-۱۳۸۰.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۳۱۵): ۲۲۵۱-۲۲۴۱

*نسخه‌ی انگلیسی این مقاله در مجله‌ی J Skin Stem Cell سال ۲۰۱۴ دوره‌ی ۱ شماره‌ی ۲ صفحه‌ی ۱ به چاپ رسیده است.

۱- دانشیار، مرکز تحقیقات پوست و سلول‌های بنیادی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۲- دانشجوی دکتری حشره‌شناسی پزشکی و کارشناس پژوهشی، مرکز تحقیقات بیماری‌های پوستی و سالک، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان و گروه حشره‌شناسی پزشکی و مبارزه با ناقلین، دانشکده‌ی بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۳- دانشیار، مرکز تحقیقات بیماری‌های پوستی و سالک و گروه اپیدمیولوژی و آمار زیستی، دانشکده‌ی بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۴- کارشناس واحد مبارزه با بیماری‌ها، معاونت بهداشتی استان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۵- دانشیار، مرکز تحقیقات بیماری‌های پوستی و سالک، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان و مرکز تحقیقات پوست و سلول‌های بنیادی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: دکتر سید محسن حسینی
Email: hosseini@hlth.mui.ac.ir

مقدمه

لیشمانیوز جلدی به دو شکل اصلی مرطوب یا روستایی (Zoonotic) و خشک یا شهری (Anthroponotic) مشاهده می‌شود. عامل بیماری در نوع شهری، لیشمانیا تروپیکا (Leishmania tropica یا L.tropica) و مخزن بیماری در درجه‌ی اول انسان است، اما سگ هم به طور اتفاقی به بیماری مبتلا می‌گردد. ناقل آن فلبوتوموس سرژنتی می‌باشد و در شهرهای تهران، کرمان، بم، مشهد، نیشابور و سبزوار وجود دارد. به تازگی هم در کانون‌های جدید رفسنجان و خمینی‌شهر اصفهان مشاهده شده است (۱-۸).

میزان بروز لیشمانیوز جلدی در ایران ۲۸ مورد در هر هزار نفر جمعیت (۲/۸ درصد) تخمین زده می‌شود (۹) که بیشترین موارد آن از استان‌های اصفهان و شیراز با ۱/۶۶ مورد در هر هزار نفر جمعیت و کمترین موارد از استان مازندران با ۰/۲۲ مورد در هر هزار نفر جمعیت گزارش شده است (۱۰). استان اصفهان از کانون‌های قدیمی این بیماری به خصوص نوع روستایی یا مرطوب آن (ZCL یا Zoonotic cutaneous Leishmaniasis) می‌باشد (۱۲-۱۱). ندیم و همکاران کانون مهم لیشمانیوز جلدی در اصفهان را شمال، شمال شرق و شرق اصفهان اعلام نمودند (۱۲). مطالعات نشان می‌دهد که برخی مناطق مانند برخوار با میزان شیوعی برابر با ۶۱/۹ درصد، از کانون‌های هایپراندمیک استان اصفهان است و انگل L.major در سال ۱۹۹۵ از پشه‌ی پاپاتاسی در این منطقه جدا شد (۱۳-۱۰). بر اساس مطالعه‌ی یعقوبی ارشادی و جوادیان در چهار روستای منطقه‌ی برخوار واقع در شمال اصفهان، موارد جدید بیماری بیشتر در افراد زیر ۱۰ سال مشاهده شد و جوشگاه ناشی از زخم شیوع در افراد بالای ۱۰ سال، ۱۱/۹ درصد و انگل جدا شده از نوع L.tropica گزارش گردید (۱۱).

همچنین این بیماری در قسمت‌هایی از اردستان، نطنز، کاشان و نواحی جنوبی و غربی کوهپایه‌ی اصفهان نیز مشاهده شد (۱۵-۱۴). با توجه به این‌که اپیدمیولوژی بیماری MON [Leishmania (Leishmania) major zymodeme] پیچیده است، علاوه بر شرایط اقلیمی و وجود پشه‌های خاکی به عنوان ناقل و جوندگان به عنوان مخزن، عوامل دیگری نیز در گسترش بیماری نقش دارند که از آن جمله می‌توان به طرح‌های کشاورزی، مهاجرت افراد غیر مصون به مناطق بومی بیماری، ورود افراد آلوده به مناطق مستعد بیماری، گسترش سریع و بدون برنامه‌ی شهرها و تغییرات زیست محیطی مانند آبیاری، سدسازی و بیابان‌زدایی اشاره نمود که همه باعث افزایش خطر بیماری و ایجاد کانون‌های جدید شده است (۱۷-۱۶).

مراکز دولتی مانند مرکز تحقیقات بیماری‌های پوستی و سالک، به آزمایشگاه تشخیص سالک و کلینیک ویژه‌ی درمان مجهز است و روزانه مراجعین زیادی را از نقاط مختلف استان اصفهان پذیرا می‌باشد که بیماران را نه تنها از نظر مبدأ ابتلا، بلکه فعال بودن کانون‌های قدیمی یا ایجاد کانون‌های جدید لیشمانیوز جلدی و سایر مشخصات دموگرافیک بررسی می‌کند و می‌تواند برای محققین ارزشمند باشد؛ ضمن این‌که اطلاعات به دست آمده در راستای برنامه‌ریزی جهت کنترل و مبارزه با لیشمانیوز جلدی در استان اصفهان می‌تواند برای متولیان این امر کارآمد باشد. با توجه به

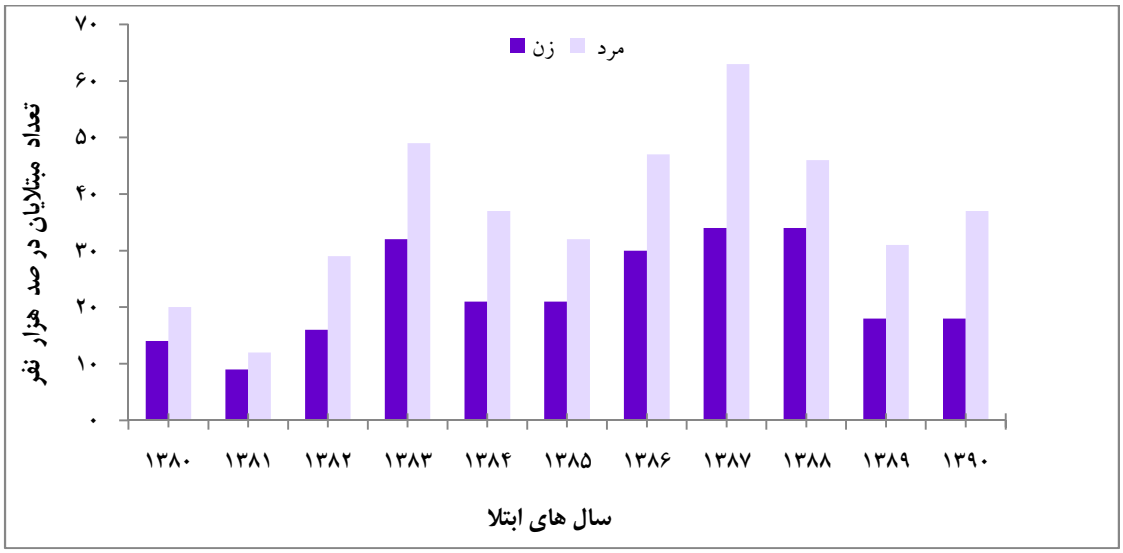
فقدان اطلاعات کافی در مورد وضعیت اپیدمیولوژیک لیشمانیوز جلدی در کل استان اصفهان و عدم وجود آمار کافی در مورد شیوع این بیماری در استان، انجام این تحقیق لازم و ضروری به نظر می‌رسید.

روش‌ها

مطالعه‌ی حاضر از نوع توصیفی- تحلیلی و به صورت مقطعی (Cross-sectional) بود و جمعیت مورد مطالعه‌ی آن را تمام افراد مبتلا به لیشمانیوز جلدی در فاصله‌ی سال‌های ۹۰-۱۳۸۰ مراجعه کننده به مراکز بهداشتی که اطلاعات آن‌ها در مرکز بهداشت استان اصفهان ثبت شده است، تشکیل می‌دادند. روش بررسی و جمع‌آوری اطلاعات از طریق پرونده‌ی بیماران و با استفاده از اطلاعات ثبت شده‌ی بیماران مبتلا به سالک در مرکز بهداشت استان انجام گرفت. این داده‌ها از نمونه‌ی مستقیم میکروسکوپی تهیه شده توسط آزمایشگاه‌های تشخیص سالک مرکز تحقیقات بیماری‌های پوست و سالک و مراکز بهداشتی دیگر، مثبت تشخیص داده شد و مشخصات فردی، تعداد و محل زخم، مدت ابتلا، محل سکونت، محل کار و سابقه‌ی مسافرت در ۲ ماه گذشته جمع‌آوری گردید. بر اساس اطلاعات موجود در پرونده‌ها، وضعیت اپیدمیولوژیک بیماری در کل استان مشخص شد. همه‌ی اطلاعات بیماران مبتلا به سالک استان در طی سال‌های ۹۰-۱۳۸۰ با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS مورد بررسی قرار گرفت. نتایج توصیفی به صورت نمودار و جدول ارایه شد و داده‌ها توسط آزمون‌های χ^2 و ANOVA تجزیه و تحلیل گردید.

یافته‌ها

در مطالعه‌ی حاضر اطلاعات مربوط به ۲۸۳۱۵ بیمار مبتلا به لیشمانیوز جلدی طی سال‌های ۹۰-۱۳۸۰ در کل استان اصفهان مورد استفاده قرار گرفت. از تعداد کل بیماران، ۱۰۸۰۹ نفر (۳۸/۲ درصد) زن و ۱۷۴۹۱ نفر (۶۱/۸ درصد) مرد بودند. نتایج به دست آمده نشان داد که بین جنس و ابتلا به بیماری سالک رابطه‌ی معنی‌داری وجود داشت ($P < ۰/۰۰۱$) (شکل ۱).



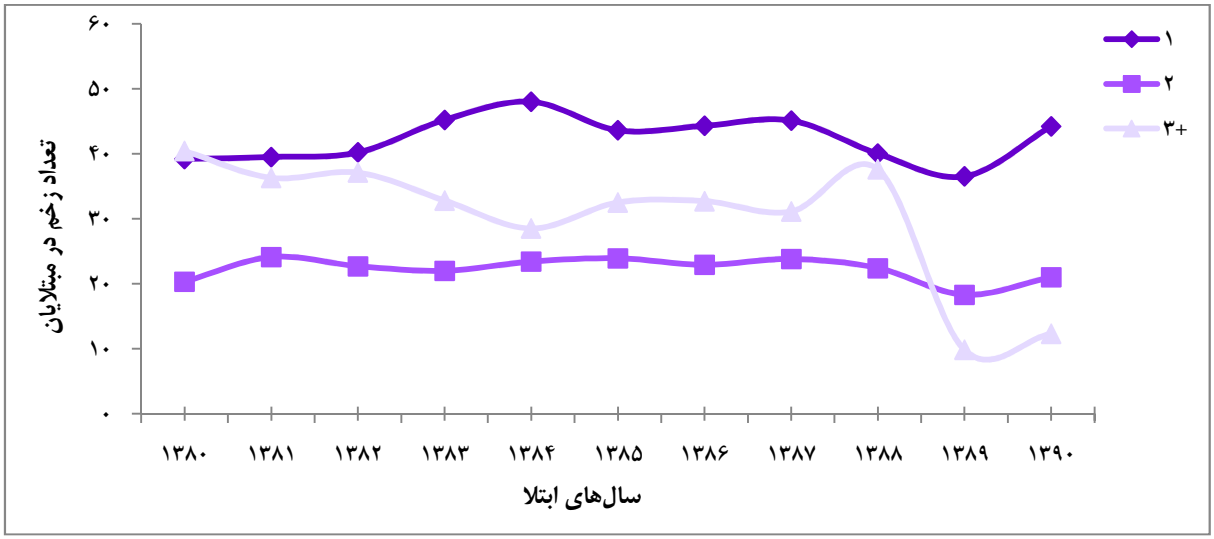
شکل ۱. شیوع بیماری لیشمانیوز جلدی به تفکیک جنسیت در استان اصفهان در طی سال‌های ۹۰-۱۳۸۰

میانگین سنی (± انحراف معیار) افراد مورد مطالعه ۱۶/۵۲ ± ۲۲/۴۰ سال بود. بررسی شیوع بیماری بر حسب گروه‌های سنی حاکی از آن بود که بیشترین شیوع بیماری در گروه سنی ۲۰-۱۰ سال و کمترین آن در گروه سنی بیشتر از ۹۰ سال بود (جدول ۱). همچنین ارتباط معنی‌داری بین شیوع بیماری و گروه‌های سنی مشاهده شد ($P < ۰/۰۰۱$). شیوع بیماری در گروه‌های سنی مختلف در جدول ۱ ارایه شده است.

بیشترین محل ابتلا در بدن به دست‌ها با ۳۲/۳ درصد و کمترین آن به پا با ۱۱/۵ درصد اختصاص داشت. تعداد ضایعات روی بدن بیماران غیر از صورت، دست‌ها و پاها بین ۱ تا بیش از ۳ زخم بود. در بین مبتلایان، ۱۲۱۶۳ نفر (۴۳/۰ درصد) یک زخم، ۶۳۳۰ نفر (۲۲/۴ درصد) دو زخم، ۵۰۳ نفر (۱/۸ درصد) سه زخم و ۸۰۰۸ نفر (۲۸/۳ درصد) بیشتر از سه زخم داشتند (شکل ۲) (جدول ۲).

جدول ۱. شیوع بیماری لیشمانیوز جلدی به تفکیک سن در استان اصفهان در طی سال‌های ۹۰-۱۳۸۰

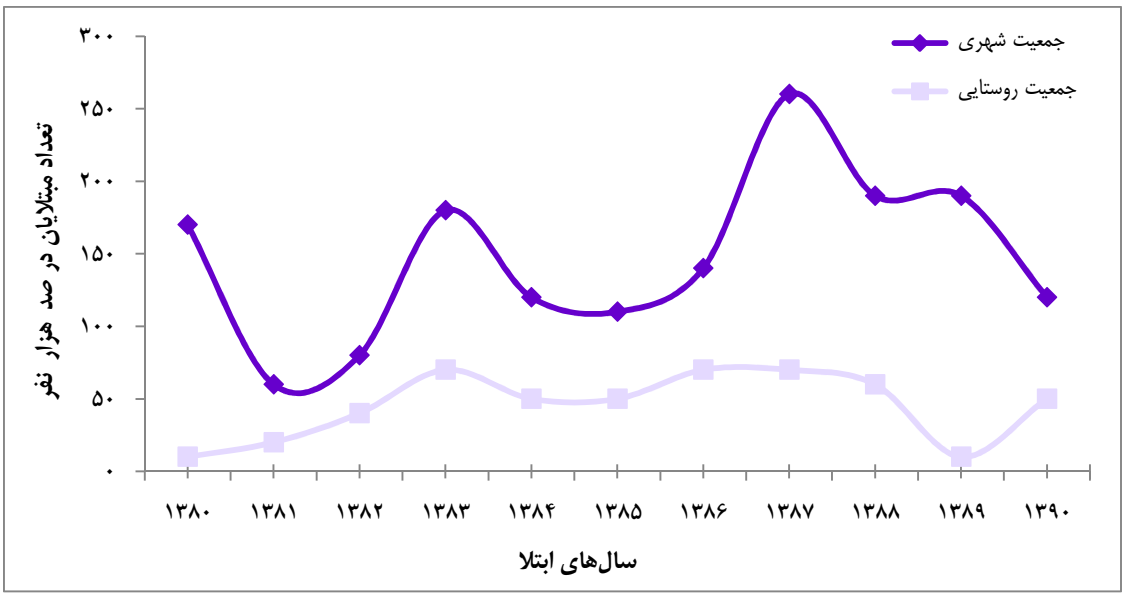
فراوانی مبتلایان (درصد)	سال‌های ابتلا									
گروه‌های سنی (سال)	۱۳۸۰	۱۳۸۱	۱۳۸۲	۱۳۸۳	۱۳۸۴	۱۳۸۵	۱۳۸۶	۱۳۸۷	۱۳۸۸	۱۳۸۹	۱۳۹۰
۰-۱۰	۲۵/۹۰	۳۴/۲۰	۲۴/۶۰	۲۳/۹۰	۲۵/۰۰	۲۶/۰۰	۲۸/۰۰	۲۳/۰۰	۲۸/۹۰	۲۷/۴۰	۲۱/۴۰
۱۰-۲۰	۲۹/۳۰	۲۸/۶۰	۳۱/۶۰	۳۱/۵۰	۳۱/۳۰	۲۹/۰۰	۲۵/۰۰	۲۳/۹۰	۲۳/۳۰	۲۱/۹۰	۲۳/۶۰
۲۰-۳۰	۱۹/۱۰	۱۶/۸۰	۲۲/۲۰	۲۲/۱۰	۲۵/۴۰	۲۲/۳۰	۲۸/۰۰	۲۹/۴۰	۲۴/۷۰	۲۴/۱۰	۳۲/۲۰
۳۰-۴۰	۸/۸۰	۷/۸۰	۸/۴۰	۹/۶۰	۸/۱۰	۱۰/۳۰	۷/۱۰	۱۰/۶۰	۹/۵۰	۹/۱۰	۱۰/۹۰
۴۰-۵۰	۶/۶۰	۶/۰۰	۷/۲۰	۶/۰۰	۵/۱۰	۶/۱۰	۵/۷۰	۶/۳۰	۵/۸۰	۷/۸۰	۵/۲۰
۵۰-۶۰	۴/۱۰	۲/۱۰	۲/۴۰	۳/۲۰	۲/۶۰	۲/۸۰	۳/۲۰	۳/۱۰	۳/۷۰	۴/۷۰	۴/۰۰
۶۰-۷۰	۴/۳۰	۳/۰۰	۲/۶۰	۲/۱۰	۱/۶	۲/۱۰	۱/۶۰	۱/۹۰	۲/۱۰	۲/۱۰	۱/۵۰
۷۰-۸۰	۱/۹۰	۱/۱۰	۰/۹۰	۱/۳۰	۰/۷۰	۱/۰۰	۱/۲۰	۱/۴۰	۱/۴۰	۱/۸۰	۰/۹۰
۸۰-۹۰	-	۰/۴۰	۰/۲۰	۰/۳۰	۰/۱۰	۰/۳۰	۰/۲۰	۰/۳۰	۰/۶۰	۰/۷۰	۰/۳۰
۹۰-۱۰۰	-	-	-	۰	۰	۰	-	۰/۱۰	۰/۱۰	۰	-



شکل ۲. فراوانی نسبی تعداد زخم ناشی از لیشمانیوز جلدی در استان اصفهان در طی سال‌های ۹۰-۱۳۸۰

جدول ۲. توزیع فراوانی مبتلایان به لیشمانیوز به تفکیک محل زخم در کل استان اصفهان در طی سال‌های ۹۰-۱۳۸۰

فراوانی مبتلایان (درصد)	سال‌های ابتلا									
محل زخم	۱۳۸۰	۱۳۸۱	۱۳۸۲	۱۳۸۳	۱۳۸۴	۱۳۸۵	۱۳۸۶	۱۳۸۷	۱۳۸۸	۱۳۸۹	۱۳۹۰
صورت	۰/۰	۱۳/۸	۱۱/۷	۱۲/۵	۱۲/۰	۱۳/۴	۱۳/۰	۱۰/۸	۱۱/۱	۱۱/۶	۱۰/۴
دست و پا	۱/۹	۱/۳	۱/۱	۱/۴	۱/۳	۱/۶	۱/۰	۱/۰	۱/۷	۰/۹	۱/۶
دست و صورت	۰/۰	۰/۰	۰/۰	۰/۰	۰/۰	۰/۰	۰/۰	۰/۰	۰/۰	۰/۷	۳/۵
صورت، دست و پا	۰/۰	۰/۰	۰/۰	۰/۰	۰/۰	۰/۰	۰/۰	۰/۰	۰/۰	۰/۴	۱/۰
پا	۲۲/۹	۲۳/۶	۲۷/۰	۲۵/۱	۲۴/۷	۲۳/۲	۲۴/۶	۲۴/۴	۲۲/۶	۱۹/۰	۲۷/۲
دست	۳۰/۶	۳۰/۶	۳۵/۱	۳۲/۴	۳۴/۰	۳۳/۰	۳۱/۷	۳۴/۷	۳۲/۲	۲۵/۹	۳۱/۲
دست و صورت	۵/۷	۵/۸	۴/۱	۴/۴	۴/۲	۴/۹	۴/۱	۴/۰	۵/۵	۴/۳	۰/۱
دست، صورت و پا	۰/۵	۳/۰	۱/۲	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۲/۱	۱/۰	۱/۹	۰/۰	۰/۰
دست و پا	۱۲/۲	۱۴/۹	۱۱/۳	۱۰/۸	۹/۹	۱۱/۶	۱۱/۳	۱۱/۰	۱۲/۵	۸/۶	۹/۶
تنه	۰/۰	۷/۲	۸/۵	۱۱/۸	۱۲/۲	۱۰/۷	۱۲/۲	۱۳/۱	۱۲/۴	۷/۹	۱۴/۰



شکل ۳. شیوع لیشمانیوز جلدی به تفکیک جمعیت شهری و روستایی در استان اصفهان در طی سال‌های ۹۰-۱۳۸۰

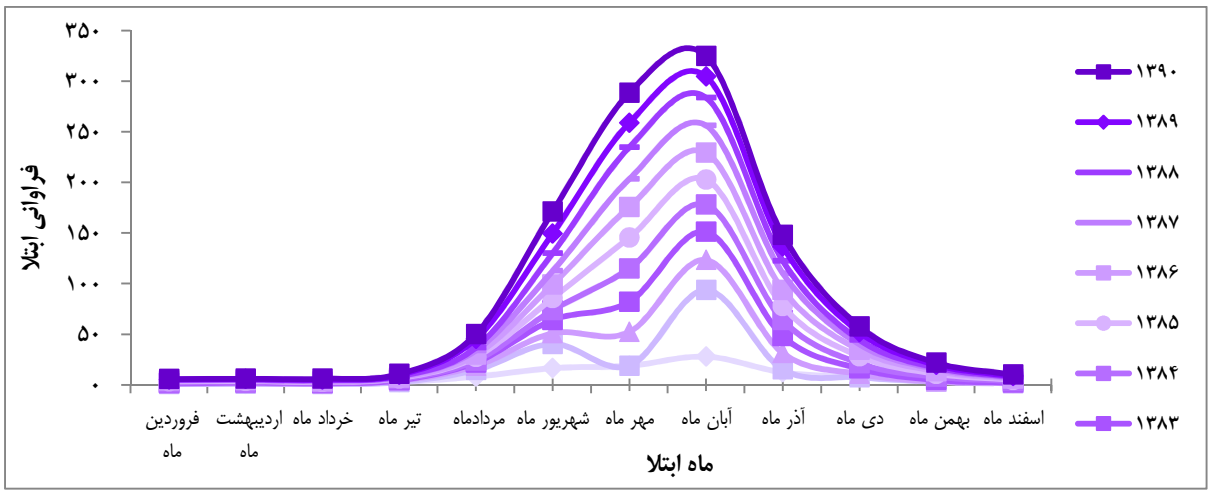
یافته‌ها نشان داد که مناطق شهری با داشتن ۶۳/۲ درصد بیمار، بیشترین موارد ابتلا را در مقایسه با مناطق روستایی ۲۹/۱ درصد داشت. شیوع بیماری در مناطق شهری بیش از دو برابر بیماران ساکن روستا بود و ارتباط معنی‌داری بین شیوع بیماری و محل سکونت بیماران مشاهده شد ($P < ۰/۰۰۱$) (شکل ۳).

بیشترین افراد مبتلا به سالک (۹۲/۸ درصد) در مناطق آندمیک بیماری (روستاهای آلوده) اسکان داشتند یا به آن مناطق مسافرت کرده بودند. ۷/۲ درصد از مبتلایان از مناطق غیر آندمیک استان بودند. فراوانی بیماران ایرانی ۹۲/۵ درصد، افغانی ۷/۴ درصد و ۰/۱ درصد را ملیت‌های دیگر تشکیل می‌دادند. شیوع بیماری بر اساس ماه‌های سال دچار

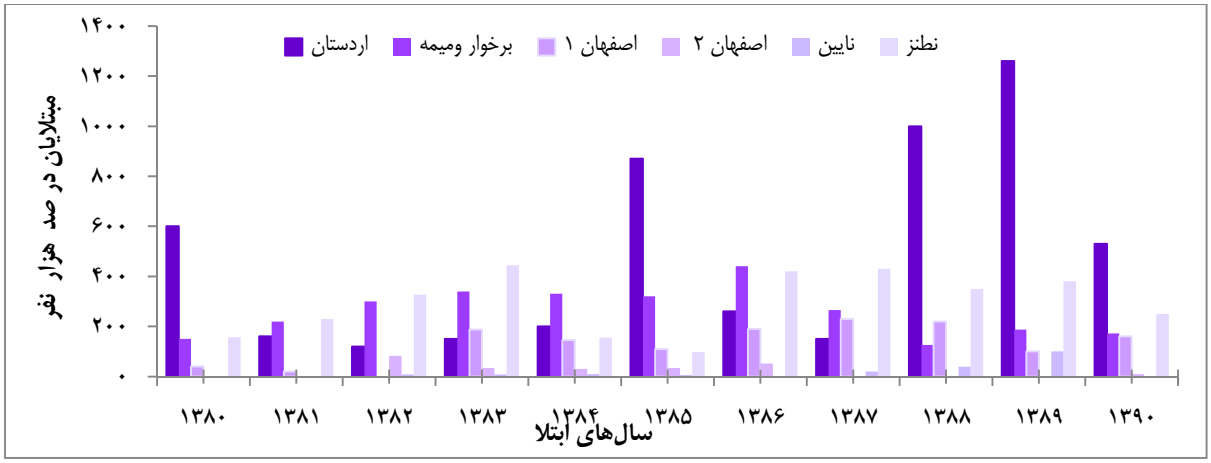
تغییرات شده بود؛ به طوری که در ماه‌های مهر (۲۸/۳ درصد) و آبان (۲۸/۳ درصد) به بالاترین میزان رسید و سپس رو به نزول رفت و در شهریور ماه برابر با ۴/۱ درصد بود. بیشترین میزان شیوع بیماری در فصل پاییز بود و ۷۰/۱ درصد موارد بیماری در این فصل رخ داد.

بر اساس بررسی‌های آماری، ارتباط معنی‌داری بین شیوع بیماری و ماه‌های سال وجود داشت ($P < ۰/۰۰۱$). بیشترین موارد بیماری لیشمانیوز جلدی در استان اصفهان مربوط به سال ۱۳۸۷ و کمترین موارد آن مربوط به سال ۱۳۸۱ بود (شکل ۴).

شکل ۵ شیوع ابتلا به لیشمانیوز جلدی در بیماران کانون‌های آندمیک بیماری در استان اصفهان در طی سال‌های ۹۰-۱۳۸۰ را نشان می‌دهد. در این شکل مشاهده می‌شود که شیوع ابتلا به لیشمانیوز جلدی در همه‌ی کانون‌های آندمیک استان اصفهان در سال‌های ۱۳۸۷ و ۱۳۹۰ کاهش یافته است.



شکل ۴. شیوع لیشمانیوز جلدی به تفکیک ماه‌های سال در استان اصفهان در طی سال‌های ۹۰-۱۳۸۰



شکل ۵. وضعیت شیوع ابتلا به لیشمانیوز جلدی بر اساس کانون‌های آندمیک بیماری در استان اصفهان در طی سال‌های ۹۰-۱۳۸۰

اصفهان ۱ شامل مناطق ورزنه، برآن شمالی، اژیه، هرند و هشتم شکاری و اصفهان ۲ شامل مناطق نیک‌آباد، حسین‌آباد، حیدرآباد، پیکان، رامشه، مبارکه، بهارستان، شهرک نگین و... می‌باشد.

جدول ۳. شیوع لیشمانیوز جلدی بر حسب کانون‌های غیر آندمیک بیماری در استان اصفهان در طی سال‌های ۹۰-۱۳۸۰

فراوانی مبتلایان (درصد)	سال‌های ابتلا									
منطقه‌ی غیر آندمیک	۱۳۸۰	۱۳۸۱	۱۳۸۲	۱۳۸۳	۱۳۸۴	۱۳۸۵	۱۳۸۶	۱۳۸۷	۱۳۸۸	۱۳۸۹	۱۳۹۰
تیران و کرون	۸/۸	۱۱/۰	۱۷/۰	۲۲/۰	۱۱/۰	۰/۶	۰/۰	۲۳/۰	۲۲/۰	۵/۸	۲۰/۰
خمینی‌شهر	۵/۳	۰/۹	۵/۹	۵/۳	۵/۹	۱/۳	۰/۰	۱۱/۰	۴/۹	۳/۹	۰/۰
سمیرم	۰/۰	۰/۰	۰/۰	۰/۰	۰/۰	۴/۲	۰/۰	۰/۰	۵/۶	۲/۸	۴/۲
فلاورجان	۰/۰	۰/۰	۱/۳	۷/۰	۰/۰	۰/۸	۰/۰	۲۱/۴	۱۲/۰	۷/۱	۹/۸
فریدن	۵/۳	۰/۹	۳/۵	۰/۵	۷/۱	۹/۵	۰/۰	۰/۰	۸/۲	۱۵/۰	۳/۵
فریدون‌شهر	۱/۱	۰/۰	۰/۰	۴/۷	۸/۲	۰/۰	۰/۰	۰/۰	۰/۰	۳۴/۰	۹/۹
مبارکه	۴/۹	۰/۰	۴/۵	۹/۹	۴/۹	۳/۷	۰/۰	۱۵/۰	۶/۰	۹/۱	۱/۵
نجف‌آباد	۱/۷	۴/۵	۰/۳	۸/۳	۷/۵	۴/۳	۰/۰	۱۱/۰	۷/۰	۶/۳	۳/۶
شهرضا	۵/۶	۰/۹	۰/۵	۰/۳	۵/۹	۱/۰	۰/۰	۲۹/۰	۲۴/۰	۱۲/۰	۱۹/۰
گلپایگان	۸/۵	۲/۱	۰/۰	۱۳/۰	۵/۷	۰/۰	۰/۰	۰/۰	۰/۰	۴/۹	۷/۴
دهاقان	۰/۰	۰/۰	۰/۰	۰/۰	۰/۰	۱۱/۱	۰/۰	۱۱/۰	۰/۰	۱۳/۰	۱۶/۰
چادگان	۰/۰	۱/۶	۰/۰	۲/۷	۲/۷	۰/۰	۰/۰	۲/۸	۱۱/۰	۵/۶	۰/۰
لنجان	۶/۶	۱/۶	۳/۷	۵/۶	۲/۸	۱۲/۸	۰/۰	۲۱/۵	۱۰/۰	۵/۸	۱۰/۰
شاهین‌شهر	۰/۰	۰/۰	۰/۰	۹/۵	۶/۶	۰/۰	۰/۰	۰/۰	۰/۰	۲۵/۰	۱۵/۰
خوانسار	۰/۰	۰/۰	۰/۰	۰/۰	۰/۰	۰/۰	۰/۰	۰/۰	۰/۰	۳/۰	۳/۰

اعداد ارایه شده شیوع مبتلایان در صد هزار نفر جمعیت در هر منطقه را نشان می‌دهد.

شیوع ابتلا در کانون‌های غیر آندمیک بیماری در استان اصفهان در طی سال‌های ۹۰-۱۳۸۰ در جدول ۳ ارایه شده است. داده‌های جدول نشان می‌دهد که شیوع ابتلای به بیماری در تمام مناطق غیر آندمیک در سال ۱۳۸۶ به صفر رسیده است.

بحث

نتایج مطالعه‌حاضر حاکی از آن بود که تعداد مبتلایان مرد بیشتر (۶۱/۸ درصد در مقابل ۳۸/۲ درصد) و حدود دو برابر بود و می‌تواند دلایلی از جمله نیروی کار مهاجر فصلی، کار کردن در محیط باز، پوشش کمتر نسبت به زنان، تردد بیشتر به مناطق متروکه و بیابانی و احتمال تماس بیشتر با پشه خاکی در هنگام عصر و شب داشته باشد. بنابراین بهتر است در جهت کاهش احتمال تماس با پشه‌ی خاکی و اجتناب از خوابیدن در مناطق روباز و غیر مسقف با افزایش آگاهی افرادی که به خارج از استان اصفهان (مناطق آندمیک) مهاجرت فصلی یا مسافرت دارند، اقدام نمود (۲۰-۱۸). در مطالعه‌ی حاضر همه‌ی افراد مبتلا به سالک سابقه‌ی مسافرت در چند ماه گذشته به یکی از مناطق آندمیک استان و یا شهرهای آلوده‌ی دیگر را داشتند (رانندگان، کارگران فصلی، افراد نظامی و مسافرین). در مطالعات انجام شده‌ی قبلی، از پدیده‌ی «مهاجرت به کانون‌های بیماری» به عنوان عاملی جهت افزایش موارد بیماری نام برده شده است (۲۳-۲۱).

بر اساس نتایج مطالعه‌ی حاضر، گروه سنی ۲۰-۱۰ سال ۲۶/۸ درصد از موارد ابتلا به بیماری را به خود اختصاص دادند. این امر نشان می‌دهد که

بیشترین شیوع بیماری مربوط به این گروه سنی در مناطق آندمیک است و اغلب این افراد در سنین فعالیت قرار دارند و کمتر از منطقه خارج شده‌اند. همچنین به دلیل عدم اطلاع و آگاهی از راه‌های سرایت بیماری، به سالک مبتلا شده‌اند. به طور کلی شیوع بیماری سالک در مناطق آندمیک در گروه‌های سنی زیر ۱۵ سال افزایش یافته و پس از آن شاید به دلیل ایمنی اکتسابی کاهش پیدا کرده است. در بررسی‌های انجام شده‌ی پیشین، بیشترین فراوانی افراد آلوده به زخم سالک در گروه سنی زیر ۱۴ سال گزارش گردیده است (۲۴-۲۲) که با نتایج به دست آمده در استان اصفهان همخوانی دارد و این موضوع نشان دهنده‌ی آندمیک بودن این استان می‌باشد.

نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که بیشترین تعداد زخم‌های بیماران روی دست (۳۲/۳ درصد) و پا (۲۴/۱ درصد) می‌باشد و با یافته‌های پژوهش نظری مطابقت داشت (۲۳). با توجه به کوتاه بودن ضمایم دهانی پشه‌های خاکی و قادر نبودن به خون‌خواری از قسمت‌های پوشیده‌ی بدن میزبان، احتمال گزش این اندام‌ها به وسیله‌ی پشه خاکی بیشتر و ایجاد ضایعه‌ی سالک نیز در این اندام‌ها از سایر نقاط بدن بیشتر می‌باشد. همچنین جاذبه‌های شیمیایی و بویایی مانند غلظت گاز دی‌اکسید کربن و... که در دست و پا بیشتر از سایر بخش‌های بدن است، پشه‌های خاکی را جهت انتخاب و ترجیح میزبان مناسب کمک می‌نماید. مطالعات انجام شده در دامغان (۲۲)، جنوب لرستان (۲۵)، اردکان (۲۶) و کشور عربستان (۲۷) نیز مؤید بیشترین ضایعات در اندام‌های باز بدن هستند.

نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که تعداد زخم‌ها در افراد آلوده متفاوت می‌باشد و بیشتر افراد دارای ۱ تا ۳ زخم (۲۸/۳ درصد) روی بدن خود بودند که این یافته با نتایج مطالعات مسگریان و همکاران (۱۰)، حمزوی و همکاران (۲۰)، رفعتی و همکاران (۲۲)، اطهری و جلال‌لو (۲۴)، بابایی و شایان (۲۵)، دهقانی تفتی و همکاران (۲۶)، ظهیرنیا و همکاران (۲۸)، رمضانی و همکاران (۲۹) و درودگر و همکاران (۳۱-۳۰) مغایرت داشت. همچنین بیشترین مورد بیماری در مناطق شهری (۶۳/۲ درصد) بود که این امر نشان می‌دهد مردم از مناطق شهری به مناطق آندمیک مسافرت کرده و مبتلا شده بودند و افراد روستایی ساکن مناطق آندمیک در سنین کودکی مبتلا می‌شوند و در سنین بالا تا حدودی نسبت به این بیماری مصون گردیده‌اند.

بیشترین شیوع بیماری در فصل پاییز و کمترین آن در فصل بهار بود که با نتایج مطالعات قبلی (۳۳-۳۲-۲۷-۲۶) همخوانی داشت. بیشترین شیوع فصلی سالک در اهواز در فصل پاییز (۴۹ درصد) و کمترین شیوع آن در فصل بهار (۹ درصد) بود (۳۳). گوناگونی ماه‌های بروز بیماری در مطالعه‌ی انجام شده در عربستان سعودی، حداکثر بروز بین خرداد تا آبان ماه را نشان داد (۲۷). بیشترین موارد سالک در اردکان بین ماه اردیبهشت تا مهر گزارش شد (۲۶). نتایج پژوهش صورت گرفته در مولتان پاکستان نشان داد که تمام موارد ابتلا در زمستان بوده است (۳۲).

با توجه به آمار ارایه شده توسط مرکز بهداشت استان در کانون‌های آلوده‌ی مناطق آندمیک طی سال‌های ۹۰-۱۳۸۰ و انجام چهار مرحله عملیات جونده‌کشی کنترل و مبارزه با سالک شامل طعمه‌گذاری با سموم فسفوردوزنگ، کلرات، قرص فستوکسین، کماوک و لانه‌کوبی و لکه‌گیری که در

همه‌ی کانون‌های آلوده‌ی مناطق آندمیک استان شامل اصفهان ۱، اصفهان ۲، اردستان، نطنز، برخوار، شاهین‌شهر و میمه در طی سال‌های ۹۰-۱۳۸۶ انجام گردیده است، شیوع ابتلا به سالک در این مناطق در سال ۱۳۸۷ کاهش یافت. همچنین در بررسی مناطق غیر آندمیک استان در سال ۱۳۸۶، شیوع ابتلا به صفر رسید که شاید به دلیل مداخلات انجام شده در طی سال ۱۳۸۶ در مناطق آندمیک استان، شیوع ابتلا در مناطق غیر آندمیک استان هم به صفر رسیده است.

سالک به عنوان یکی از مهم‌ترین بیماری‌های منتقل شونده توسط پشه‌ی خاکی، به دلیل شیوع فراوان پراکندگی در نقاط مختلف کشور، دارای اهمیت خاصی است و باید در هر نقطه‌ای که مشاهده شد به فکر مبارزه‌ی با آن بود؛ به خصوص در مناطقی مانند استان اصفهان که میزان شیوع آن بسیار بالا می‌باشد. پاک‌سازی محلات از زباله‌ها با دقت بیشتری انجام گردد. مخازن حیوانی این بیماری در هر منطقه شناسایی و مبارزه با آن‌ها به روش‌های مطلوب انجام و کانون‌های زندگی پشه‌ی خاکی مشخص و سم‌پاشی شود و در نهایت آموزش نحوه‌ی انتقال و راه‌های پیشگیری بیماری سالک به مردم آموزش داده شود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از کارکنان مرکز تحقیقات بیماری‌های پوستی و سالک اصفهان و کارشناس زئونوز مرکز بهداشت استان، جناب آقای مهندس جواد رمضان‌پور به جهت همکاری و مساعدت، تشکر و قدردانی نماید.

References

1. Afsar Kazerooni P, Aliakbarpour M, Gharecahi AM. Epidemiologic study of geographical distribution of Leishmaniasis based on geographical information system in Fars province. J Kerman Univ Med Sci 2006; 13(2): 32. [In Persian].
2. Aflatoonian MR, Sharifi I. The epidemiology of Cutaneous leishmaniasis in the city and suburb of Bam in 2010: active case-finding, treatment and health education of the school children. Iran J Epidemiol 2011; 7(3): 52-7. [In Persian].
3. Nadim A, Seyedi Rashti MA. Cutaneous. leishmaniasis in Khorasan. Iranian J Pub Health 1972; 1(2): 20-5.
4. Nadim A, Aflatoonian MR. Anthroponotic cutaneous leishmaniasis in the city of Bam, southeast Iran. Iran J Public Health 1995; 4(1-2): 15–24.
5. Seyedi-Rashti A, Keighobadi K, Nadim A. Urban cutaneous leishmaniasis in Kerman, Southeast Iran. Bull Soc Pathol Exot Filiales 1984; 77(3): 312-9.
6. Yaghoobi-Ershadi MR, Javadian E. Studies on sandflies in a hyperendemic area of zoonotic cutaneous leishmaniasis in Iran. Indian J Med Res 1997; 105: 61-6.
7. Nilforoushzadeh MA, Shirani Bidabadi L, Hosseini SM, Fadaei Nobari R, Jaffary F. Cutaneous leishmaniasis in Isfahan Province, Iran, During 2001-2011. Skin Stem Cell 2014; 1(2): e23303.
8. Ranjbar-Totoei AA, Soltani AM. Epidemiologic study of cutaneous Leishmaniasis in Noogh/Rafsanjan in 2005. J Kerman Univ Med Sci 2006; 13(2): 95. [In Persian].
9. Yaghoobi-Ershadi MR, Javadian E, Tahvildare-Bidruni GH. Leishmania major MON-26 isolated from naturally infected Phlebotomus papatasi (Diptera: Psychodidae) in Isfahan Province, Iran. Acta Trop 1995; 59(4): 279-82.
10. Mesgarian F, Rahbarian N, Mahmoud Radi M, Hajaran H, Shahbaz F, Mesgarian Z, et al. Identification of leishmania species isolated from human cutaneous leishmaniasis in Gonbad-e-Qabus city using a PCR method during 2006-2007. Tehran Univ Med J 2010; 68(4): 250-6.
11. Yaghoobi-Ershadi MR, Javadian E. Zoonotic cutaneous leishmaniasis to the north of Isfahan. Human infection in 1991. Bull Soc Pathol Exot 1995; 88(1): 42-5.
12. Nadim A, Mesghali A, Amini H. Epidemiology

of cutaneous leishmaniasis in the Isfahan province of Iran. 3. The vector. Trans R Soc Trop Med Hyg 1968; 62(4): 543-9.
13. Gharavi MG. Handbook of medical protozoology. 3rd ed. Tehran, Iran: Tabib Publications; 2003.
14. Zahraei Ramezani A. Assessment of cutaneous leishmaniasis in the Isfahan (vector, reservoir, gent) [MSc Thesis]. Tehran, Iran: School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences; 1992. [In Persian].
15. Nilforoushzadeh MA, Sadeghian G. Cutaneous leishmaniasis. Isfahan, Iran: Isfahan University of Medical Sciences Publication; 2002. [In Persian].
16. Desjeux P. The increase in risk factors for leishmaniasis worldwide. Trans R Soc Trop Med Hyg 2001; 95(3): 239-43.
17. World Health Organization. Leishmaniasis [Online]. [cited 2015 Feb]; Available from: URL: http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs375/en/
18. Ministry of Health and Medical Education, Center for Disease Control. Instruction of leishmaniasis control. Tehran, Iran: Center for Disease Control; 1999. [In Persian].
19. Markle WH, Makhoul K. Cutaneous leishmaniasis: recognition and treatment. Am Fam Physician 2004; 69(6): 1455-60.
20. Hamzavi Y, Frozani A, Moheb Ali M. Cutaneous leishmaniasis in Bosheher province 1984-1998. Behbood J 2001; 5(3):1–8. [In Persian].
21. Magill AJ. Cutaneous leishmaniasis in the returning traveler. Infect Dis Clin North Am 2005; 19(1): 241-xi.
22. Rafati N, Shaporimoghadem A, Ghorbani R. Epidemiological study of cutaneous leishmaniasis in Damghan (2000-2006). Koomesh 2007; 8(4): 247-54. [In Persian].
23. Nazari M. Cutaneous leishmaniasis in Hamadan, Iran (2004-2010). Zahedan J Res Med Sci 2012; 13(9): 39-42. [In Persian].
24. Athari A, Jalallu N. A five-year survey of Cutaneous leishmaniasis in Iran. J Isfahan Med Sch 2006; 24(82): 8-13. [In Persain].
25. Babaei GHR, Shayan A. An epidemiological study of cutaneous leishmaniasis and the investigation of scars with emphesis on seasons, age and sex groups in Paalam, South of Lorestan province. Armagan Danesh J 2003; 8(29): 51–7. [In Persain].
26. Dehghani Tafti A, Hanafi Bajd AA, Jafari R, Ehrampoush MH. Cutneous leishmaniasis in Ardakan city. J Shaheed Sadoughi Univ Med Sci 1993; 11(1 Suppl 4): 22–8. [In Persain].
27. Kubeyinje EP, Belagavi CS, Jamil YA. Cutaneous leishmaniasis in expatriates in northern Saudi Arabia. East Afr Med J 1997; 74(4): 249-51.
28. Zahirnia AH, Moradi AR, Norozi NA, Bathaii JN, Erfani H, Moradi A. Epidemiological survey of cutaneous leishmaniasis in Hamadan province (2002-2007). Sci J Hamdan Univ Med Sci 2009; 16(1): 43-7. [In Persain].
29. Ramezani Y, Mousavi SGhA, Bahrami A, Fereydooni M, Parsa N, Kazemi B. Epidemiological study of cutaneous leishmaniasis in Aran and Bidgol from April to September 2009. Feyz 2011; 15(3): 254-8. [In Persian].
30. Doroudgar A, Mahboubi S, Nematian M, Sayah M, Doroudgar M. An epidemiological study of cutaneous leishmaniasis in Kashan (2007-2008). Koomesh 2009; 10(3): 177-83. [In Persian].
31. Doroudgar A, Dehghani R, Hooshyar H. Prevalence of salak in Aran and Bidgol. J Qazvin Univ Med Sci 1999; 3(3): 84-92. [In Persian].
32. Desjeux P. Leishmaniasis. Nat Rev Microbiol 2004; 2(9): 692-3.
33. Naghash A, et al. Cutaneous Leishmaniasis of Ahwaz. Nabz Journal 1992; 7(1): 22–6.

Journal of Isfahan Medical School
Received: 25.11.2014
Vol. 32, No. 315, 4th Week, February 2015
Accepted: 24.01.2015

The Epidemiology of Cutaneous Leishmaniasis in Isfahan Province, Iran, During 2001-2011

Mohammad Ali Nilforoushzadeh MD[1], Leila Shirani-Bidabadi MSc[2], Sayed Mohsen Hosseini PhD[3], Reza Fadaei-Nobari MD[4], Fariba Jaffary MD[5]

Original Article

Abstract

Background: Isfahan province is one of the common foci of the cutaneous leishmaniasis in Iran, particularly the wet or rural zoonotic cutaneous leishmaniasis (ZCL). Due to the lack of information about the epidemiology and prevalence of cutaneous leishmaniasis in Isfahan province, Iran, this study was designed.

Methods: Data were collected from the recorded data of patients with leishmaniasis referred to Isfahan Province Health Care Center, Isfahan, Iran. The patients were diagnosed by direct microscopic examination of the samples. Data concerning demographic features, the number and location of lesions, duration of disease, area of residence, work location, the history of travel within the past two months, address, and telephone number of the patients was collected. The epidemiological status of leishmaniasis was determined from the recorded data.

Findings: In total, data of 28315 patients with leishmaniasis during 2001 to 2011 were studied. Among them, 10809 (38.2%) patients were women and 17491 (61.8%) were men. The mean age of the patients was 22.40 ± 16.52 years (range: 1-100 years). The incidence of lesions was 12.1% in face, 12.3% in hands and legs, 4.5% in face and hands, 24.1% in legs, 32.3% in hands and 11.5% in the other parts of body. 12163 patients (43%) had one, 6330 (22.4%) had two, 503 (8.1%) had three, and 8008 (28.3%) had more than three lesions. Overall, 17883 patients (63.2%) lived in urban areas and 8241 (29.1%) in rural areas and most of the cases were seen among those who lived in cities and urban areas.

Conclusion: Considering the high prevalence of cutaneous leishmaniasis in the Isfahan province, eliminating the leishmaniasis vector and its reservoirs in this endemic area seems to be necessary. During the years, it has been showed that leishmaniasis is endemic in Isfahan province; hence, a more extensive epidemiologic study is recommended.

Keywords: Leishmaniasis, Cutaneous, Epidemiology, Prevalence, Isfahan, Iran

Citation: Nilforoushzadeh MA, Shirani-Bidabadi L, Hosseini SM, Fadaei-Nobari R, Jaffary F. **The Epidemiology of Cutaneous Leishmaniasis in Isfahan Province, Iran, During 2001-2011.** J Isfahan Med Sch 2015; 32(315): 2241-51

*The English version of this article has been previously published in J Skin Stem Cell: 2014, Vol 1, No: 2; 1.
1- Associate Professor, Skin and Stem Cell Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
2- PhD Student, Researcher, Skin Diseases and Leishmaniasis Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan AND Department of Medical Entomology and Vector Control, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
3- Associate Professor, Skin Diseases and Leishmaniasis Research Center AND Department of Biostatistics and Epidemiology, School of Health, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
4- Department of Disease Control, Isfahan Provincial Health Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
5- Associate Professor, Skin Diseases and Leishmaniasis Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan AND Skin and Stem Cell Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
Corresponding Author: Sayed Mohsen Hosseini PhD, Email: hosseini@hlth.mui.ac.ir

مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و دوم/شماره ۳۱۵/هفته چهارم بهمن ماه ۱۳۹۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۸/۲۴
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۰/۲۹

درمان زخم مقاوم دیابتی با استفاده از تری‌کلرو استیک اسید و فیبروبلاست؛ گزارش دو مورد

دکتر محمد علی نیلفروش زاده[۱]، دکتر فریبا جعفری[۲]، دکتر منصور سیاوش[۳]، آسیه حیدری[۴]، دکتر نازلی انصاری[۵]، دکتر امیرحسین سیادت[۶]

گزارش مورد

چکیده

مقدمه: زخم پا یکی از مهم‌ترین عوارض دیابت است و احتمال ابتلا به آن در طول زندگی هر بیمار مبتلا به دیابت به میزان ۱۵ درصد می‌باشد. تاکنون، روش‌های درمانی متعددی برای درمان زخم پای دیابت ارایه شده است. در صورت پاسخ ندادن به درمان‌های استاندارد، درمان‌های دیگر و یا روش‌های نوین مورد استفاده قرار می‌گیرد.

معرفی بیمار: دو بیمار مرد مبتلا به دیابت ملیتوس نوع ۲ و دارای زخم پای مقاوم به درمان، در این مطالعه وارد شدند. درمان شامل محلول تری‌کلرو استیک اسید (Trichloro acetic acid یا TCA) ۵۰ درصد و فیبروبلاست اتولوگ برای آن‌ها انجام شد. در هر دو بیمار، درمان توأم با بهبودی کامل زخم پا بود و در یک بیمار، زخم عمیقی که تا سطح تاندون پشت پا گسترش یافته بود، پس از ۱۰ هفته از کاربرد فیبروبلاست، بهبودی کامل پیدا کرد.

نتیجه‌گیری: تری‌کلرو استیک اسید و فیبروبلاست اتولوگ می‌تواند به عنوان انتخاب درمانی برای زخم پای دیابتی مقاوم در نظر گرفته شود.

واژگان کلیدی: زخم پای دیابتی مقاوم به درمان، تری‌کلرو استیک اسید، فیبروبلاست اتولوگ

ارجاع: نیلفروش زاده محمد علی، جعفری فریبا، سیاوش منصور، حیدری آسیه، انصاری نازلی، سیادت امیرحسین. **درمان زخم مقاوم دیابتی با استفاده از تری‌کلرو استیک اسید و فیبروبلاست؛ گزارش دو مورد.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۳۱۵): ۲۲۵۹-۲۲۵۲

مقدمه

زخم پا یکی از مهم ترین عوارض دیابت است که احتمال ابتلا به آن در طول زندگی هر بیمار به میزان ۱۵ درصد می‌باشد (۱). زخم پای دیابتی یکی از معضلات درمانی در بیماران مبتلا به دیابت محسوب می‌گردد. این زخم‌ها به دنبال اختلال در گردش خون و همچنین نوروپاتی ایجاد می‌شوند و هزینه‌ی بالا و ناخوشی‌هایی را در پی خواهند داشت. تاکنون

* نسخه‌ی انگلیسی این مقاله در مجله‌ی J Skin Stem Cell سال ۲۰۱۴ دوره‌ی ۱ شماره‌ی ۲ به چاپ رسیده است.

۱- دانشیار، مرکز تحقیقات پوست و سلول‌های بنیادی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۲- دانشیار، مرکز تحقیقات بیماری‌های پوستی و سالک، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان و مرکز تحقیقات پوست و سلول‌های بنیادی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۳- دانشیار، مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۴- کارشناس ارشد، مرکز تحقیقات بیماری‌های پوستی و سالک، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۵- پزشک، محقق، مرکز تحقیقات بیماری‌های پوستی و سالک، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۶- استادیار، مرکز تحقیقات بیماری‌های پوستی و سالک، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر فریبا جعفری
Email: jaffary@pharm.mui.ac.ir

روش‌های درمانی متعددی برای درمان زخم پای دیابتی ارایه شده است. درمان عفونت، دبریدمان (Debridement)، کنترل قند، ترمیم عروق، استفاده از اکسیژن پرفشار، اصلاح ناهنجاری‌های پا، برداشتن فشار از روی پا و واکیوم‌تراپی از جمله درمان‌های استاندارد این‌گونه زخم‌ها می‌باشد (۲).

در صورت پاسخ ندادن به درمان‌های استاندارد، درمان‌هایی مانند تحریک الکتریکی از طریق لیزر حرارتی و لیزر کم‌توان، فاکتورهای رشد، درمان با محلول تری‌کلرو استیک اسید (Trichloro acetic acid یا TCA) و درمان‌های نوینی همچون سلول‌های بنیادی مطرح شده است (۴-۳). در مطالعه‌ی حاضر تأثیر روش درمان توأم محلول تری‌کلرو استیک اسید و انتقال فیبروبلاست اتولوگ در درمان زخم پای دیابتی در دو بیمار به تفصیل بررسی شد.

معرفی بیمار

دو بیمار مبتلا به دیابت ملیتوس نوع ۲ و دارای زخم پای مقاوم به درمان در این مطالعه وارد و به طور منظم ویزیت شدند. شاخص فشار خون پا به فشار خون دست (Ankle-Brachial index یا ABI) در عروق خلفی پا و تیبیالیس قدامی جهت ارزیابی وضعیت عروقی بیماران اندازه‌گیری گردید که در این بیماران طبیعی بود. بیماران درمان‌های استاندارد زخم پای دیابتی شامل کنترل عفونت با آنتی‌بیوتیک مناسب، دبریدمان، کنترل قند، کاهش فشار بر روی زخم و برنامه‌های آموزشی جهت کنترل زخم را دریافت کرده و هر دو بیمار تحت واکیوم‌تراپی قرار گرفته بودند.

با وجود اجرای درمان استاندارد، هیچ کدام از این بیماران علایم بهبودی را نشان ندادند و به کلینیک زخم مرکز تحقیقات پوست و سالک اصفهان ارجاع داده شدند. اطلاعات بیماران در پرونده ثبت شد و از آن‌ها رضایت‌نامه‌ای جهت شرکت در مطالعه اخذ گردید. از بیماران هر هفته توسط دوربین دیجیتال (Canon-Iso400D) در شرایط یکسان عکس گرفته شد. طول، عرض و مساحت زخم توسط نرم‌افزار PictZar® (PictZar Biovisual version 5.05.2, Technologies, New Jersey, USA) قبل و بعد از درمان مشخص شد.

درجه‌بندی زخم با توجه به جدول ۱ (۵) و نمره‌ی عفونت زخم در جدول ۲ (۶) نشان داده شده است. میزان بهبودی بر اساس تفاوت درصد مساحت زخم قبل و بعد از درمان برآورد گردید.

اطلاعات دموگرافیک دو بیمار شامل جنس، سن، مدت زمان دیابت، مدت زمان زخم، ABI، مرحله‌بندی و درجه‌بندی زخم در جدول ۳ ارایه شده است.

جدول ۱. سیستم طبقه‌بندی زخم بر اساس دانشگاه تگزاس (۵)

مرحله	درجه ۰	درجه ۱	درجه ۲	درجه ۳
A	ضایعه‌ی قبل از زخم یا بعد از زخم بدون پارگی پوست	زخم سطحی	زخم عمقی تا تاندون یا کپسول	زخم با نفوذ به استخوان یا مفصل
B	عفونت +	عفونت +	عفونت +	عفونت +
C	ایسکمی +	ایسکمی +	ایسکمی +	ایسکمی +
D	عفونت و ایسکمی	عفونت و ایسکمی	عفونت و ایسکمی	عفونت و ایسکمی

جدول ۲. درجه‌بندی عفونت زخم پای دیابتی جهت ارزیابی عفونت زخم (۶)

شاخص	درجه ۰	درجه ۱	درجه ۲	درجه ۳
ترشح چرکی	ندارد	–	–	دارد
ترشح غیر چرکی (سروز خونی)	ندارد	خفیف = رنگ صورتی و به سختی محسوس	متوسط = رنگ قرمز پریده با لبه‌های مشخص	شدید
اریتم (Erythema)	ندارد	خفیف	متوسط	شدید = رنگ قرمز تا قرمز تیره
اندوراسیون (سفتی)	ندارد	خفیف	متوسط	شدید
تندرنس (حساسیت به لمس) (علایم معاینه)	ندارد	خفیف	متوسط	شدید
درد (علایم بیمار)	ندارد	خفیف	متوسط	شدید
گرمی موضعی (در مقایسه با قسمت جانبی غیر عفونی پا)	یکسان	به طور خفیف افزایش یافته	به طور متوسط افزایش یافته	به شدت افزایش یافته

هر یک از هفت شاخص از ۰ تا ۳ درجه‌بندی و سپس همه‌ی درجات به عنوان نمره‌ی کل زخم عفونی جمع‌بندی می‌گردد.

جدول ۳. اطلاعات دموگرافیک بیماران مبتلا به زخم پای دیابتی

بیماران مبتلا به زخم پای دیابتی	سن (سال)	جنس	مدت زمان دیابت (سال)	درجه‌ی زخم	مرحله‌ی زخم	ABI*	محل زخم	مدت زمان زخم (ماه)
بیمار ۱	۶۴	مرد	۱	۲	D	۰/۹۰	سطح خلفی پای چپ	۵
بیمار ۲	۷۱	مرد	۱۰	۲	D	۰/۸۶	سطح خلفی پای چپ	۱

*ABI: Ankle-Brachial index

پس از ضد عفونی کردن ناحیه‌ی زخم، محلول تری‌کلرو استیک اسید ۱۰۰ درصد در اطراف زخم و از نوع ۵۰ درصد آن در مرکز زخم توسط اپلیکاتور پنبه‌ای مالیده شد. سپس توسط محلول نرمال سالین شستشو و روی زخم با گاز استریل پوشانده شد. پوشش زخم تا یک هفته به صورت روزانه تعویض گردید. تمام درمان‌ها و ارزیابی‌های معمول برای همه‌ی بیماران به مدت ۵ هفته صورت گرفت.

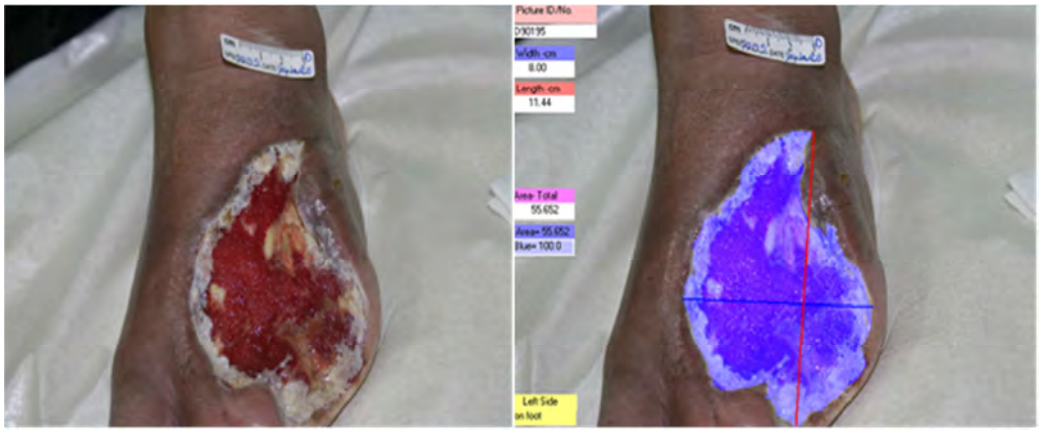
برای به دست آوردن فیبروبلاست اتولوگ، یک بیوپسی پانچ (Punch biopsy) به اندازه‌ی ۴ میلی‌متر از پشت گوش بیمار گرفته شد و هر دو نمونه‌ی پوست و خون بیمار جهت کشت فیبروبلاست به آزمایشگاه کشت سلول واقع در مرکز تحقیقات بیماری‌های پوستی و سالک منتقل شد. پس از گرفتن نمونه‌ی پوستی و طی مراحل آماده‌سازی و کشت، کشت فیبروبلاست انجام شده در بیمار اول نشان داد که تعداد سلول‌ها در هنگام تزریق پس از دو بار پاساژ و طی ۴۵ روز به حدود ۶۵۰۰۰۰۰ سلول و در بیمار دوم پس از دو بار پاساژ و طی ۳۵ روز به حدود ۶۷۵۰۰۰۰ سلول جهت تزریق رسیده بود.

جهت آمادگی زخم برای پیوند سلول و همچنین از بین بردن بافت هایپرکراتوتیک اطراف، زخم با استفاده از تیغ جراحی اسکالپل شماره‌ی ۱۵ تا زمانی که خونریزی نقطه‌ای ایجاد شود، دبرید گردید. لایه‌ی نازکی از

محلول فیبروبلاست با استفاده از سرنگ استریل بر روی زخم ریخته و سپس با پانسمان میپتل (پانسمان سیلیکون غیر چسبناک) و تگادرم ۳ متری (پانسمانی شامل یک غشای نازک پلی‌اورتان پوشیده شده با یک لایه‌ی اکریلیک چسبنده) پوشیده شد و بانداژ صورت گرفت. برای بیماران به مدت ۱۴ روز، سیپروفلوکساسین ۵۰۰ میلی‌گرم دو بار در روز و کلیندامایسین ۳۰۰ میلی‌گرم سه بار در روز جهت پیشگیری از عفونت تجویز و پانسمان روز پنجم باز شد.

در بیمار اول، قطر بزرگ زخم ۱۱/۴۴ سانتی‌متر با مساحت ۵۵/۶۵ سانتی‌متر مربع بود (مرحله‌ی D، درجه‌ی ۲) (شکل ۱). بعد از ۵ هفته استعمال تری‌کلرو استیک اسید، قطر بزرگ زخم ۱۱/۰۴ سانتی‌متر و مساحت ۴۱/۷۸ سانتی‌متر مربع (مرحله B، درجه ۲) شد (شکل ۲).

قطر بزرگ زخم در بیمار دوم برابر با ۶/۵۸ سانتی‌متر و مساحت ۱۹/۹۴ سانتی‌متر مربع بود (مرحله‌ی D، درجه‌ی ۲) (شکل ۴). در این بیمار تری‌کلرو استیک اسید ۵۰ درصد در اطراف زخم و تری‌کلرو استیک اسید ۳۵ درصد در مرکز زخم برای ۵ هفته استعمال گردید. بعد از ۵ هفته درمان، اندازه‌ی زخم به قطر بزرگ ۶/۲۱ سانتی‌متر و مساحت ۱۶/۳۱ سانتی‌متر مربع (مرحله‌ی D، درجه‌ی ۲) کاهش یافت (شکل ۵).



شکل ۱. بیمار اول قبل از استعمال تری‌کلرو استیک اسید

شکل ۲. بیمار اول ۵ هفته بعد از استعمال تری‌کلرو استیک اسید

شکل ۴. بیمار دوم قبل از استعمال تری‌کلرو استیک اسید

شکل ۵. بیمار دوم ۵ هفته بعد از استعمال تری‌کلرو استیک اسید

شکل ۶. بیمار دوم ۱۰ هفته بعد از درمان با فیبروبلاست

بعد از استعمال فیبروبلاست، اپیتلیزاسیون و کاهش در اندازه‌ی زخم بیمار اتفاق افتاد. بعد از ۴ هفته از استعمال فیبروبلاست، نمره‌ی عفونت زخم ۱، قطر بزرگ زخم ۵/۷۱ سانتی‌متر و مساحت آن ۹/۲۶ سانتی‌متر مربع بود (مرحله‌ی B، درجه‌ی ۱). سپس تری‌کلرو استیک اسید ۵۰ درصد به صورت هفتگی و تا ۴ هفته در اطراف زخم مالیده شد. در این بیمار نیز در نهایت نمره‌ی عفونت زخم صفر، قطر بزرگ ۱/۶۱ سانتی‌متر و مساحت آن ۱/۰۵ سانتی‌متر مربع شد (مرحله‌ی A، درجه‌ی ۱) (شکل ۶). میزان

بهبودی در این بیمار ۹۵ درصد بود و زخم به طور کامل راپیتلیزاسیون شد.

بحث

۲۵ درصد از بیماران مبتلا به دیابت در طول زندگی با خطر پیشرفت زخم پا روبه‌رو هستند (۷). متأسفانه اغلب درمان‌های ارایه شده برای زخم پای دیابتی ناکافی می‌باشد (۸). در مطالعه‌ی حاضر دو بیمار مبتلا به دیابت که به درمان‌های رایج پاسخ مناسبی نداده بودند، تحت روش پیشنهادی درمان توأم با محلول تری‌کلرو استیک اسید ۵۰ درصد و فیبروبلاست اتولوگ قرار گرفتند. هر دو درمان در بهبودی زخم پای بیماران مؤثر بود؛ به طوری که در یک بیمار زخم عمیقی که تا سطح تاندون‌های خلفی پا نفوذ کرده بود، پس از ۱۰ هفته از کاربرد فیبروبلاست بهبودی کامل یافت.

تری‌کلرو استیک اسید جایگاه مهمی در عوامل پیلینگ شیمیایی دارد و یکی از کاربردهای بدیع آن، استفاده در درمان زخم‌های مقاوم است. مطالعات نشان داده‌اند که بعد از دو هفته استعمال تری‌کلرو استیک اسید، بازسازی سلولی تسریع می‌یابد (۱۰-۹). جهت بهبود ایسکمی زخم دیابت، سلول‌های بنیادی و سلول‌های آندوتلیال و فیبروبلاست‌ها به صورت سوسپانسیون و یا بر روی داربست (اسکافولد) استفاده می‌شود؛ به طوری که رگ‌های خونی جدید توسط تحریک فاکتورهای رشد و گیرنده‌های سکرتین پاراکرین تشکیل شده، به بهبودی سریع زخم کمک می‌کند (۱۱). یک مرور سیستماتیک که انواع روش‌های درمانی مؤثر در درمان زخم پای دیابتی را مورد مطالعه قرار داد، کاربرد کشت فیبروبلاست پوستی در بهبودی زخم‌های غیر ایسکمیک کف پا در طول ۱۲ هفته را گزارش نمود (۳). همچنین در یک مطالعه‌ی کارآزمایی بالینی تصادفی قطعی بیان شد که در گروه مداخله با فیبروبلاست، بهبودی در طول ۱۲ هفته به طور معنی‌داری بالاتر از گروه شاهد بود (۱۲).

مطالعات انجام شده بر روی فیبروبلاست‌های زخم‌های دیابتی نشان می‌دهد که مورفولوژی آن‌ها در طی روند زخم تغییر یافته، باعث کاهش ظرفیت پرولیفراتیو آن‌ها می‌گردد. تأثیر درماگرافت در زخم‌های مزمن پای دیابتی در مطالعات متعدد کارآزمایی بالینی نشان داد که تأثیر این درمان به طور قابل توجهی بیشتر از سایر درمان‌های مرسوم می‌باشد. فیبروبلاست‌ها در زخم‌های حاد و مزمن باعث کاهش درد، بهبودی سریع و جوشگاه کمتر و از طرف دیگر نتایج زیبایی بهتری شده‌اند (۱۳). پس از استفاده از جایگزین‌های پوستی در زخم‌های حاد جراحی، توانایی آن‌ها در تحریک بافت گرانوله تأیید گردید و بافت انتقالی پس زده نشد (۱۴). نتایج مطالعه‌ی حاضر کاربرد فیبروبلاست را به عنوان یک روش مؤثر برای درمان زخم‌های دیابتی مقاوم پیشنهاد می‌دهد.

References

1. Dalla PL, Faglia E. Treatment of diabetic foot ulcer: an overview strategies for clinical approach. Curr Diabetes Rev 2006; 2(4): 431-47.
2. Aalami Harandi B, Aalami Harandi A, Siavashi B. Diabetic foot ulcer management review of literature. Iran J Surg 2009; 16(4): 1-7. [In Persian].
3. Hinchliffe RJ, Valk GD, Apelqvist J, Armstrong DG, Bakker K, Game FL, et al. A systematic review of the effectiveness of interventions to enhance the healing of chronic ulcers of the foot in diabetes. Diabetes Metab Res Rev 2008; 24(Suppl 1): S119-S144.
4. Nilforoushzadeh MA, Jaffary F, Siavash M, Heidari A, Ansari N, Siadat AH. Treatment of Recalcitrant Diabetic Ulcers With Trichloroacetic Acid and Fibroblasts. J Skin Stem Cell 2014; 1(2 SP e23312).
5. Lavery LA, Armstrong DG, Harkless LB. Classification of diabetic foot wounds. J Foot Ankle Surg 1996; 35(6): 528-31.
6. Knighton DR, Ciresi KF, Fiegel VD, Austin LL, Butler EL. Classification and treatment of chronic nonhealing wounds. Successful treatment with autologous platelet-derived wound healing factors (PDWHF). Ann Surg 1986; 204(3): 322-30.
7. Singh N, Armstrong DG, Lipsky BA. Preventing foot ulcers in patients with diabetes. JAMA 2005; 293(2): 217-28.
8. Margolis DJ, Allen-Taylor L, Hoffstad O, Berlin JA. Healing diabetic neuropathic foot ulcers: are we getting better? Diabet Med 2005; 22(2): 172-6.
9. Nguyen TH, Rooney JA. Trichloroacetic acid peels. Dermatologic Therapy 2000; 13(2): 173-82.
10. Nifroushzadeh MA, Jafary F, Reiszadeh MR. Comparative effect of topical trichloroacetic acid and intralesional meglumine antimoniate in the treatment of acute cutaneous leishmaniasis. Int J pharm 2006; 2(6): 633-6.
11. Ulicna M, Danisovic L, Vojtassak J. Does cell therapy and tissue engineering represent a promising treatment of diabetic foot ulcers? Bratisl Lek Listy 2010; 111(3): 138-43.
12. Marston WA, Hanft J, Norwood P, Pollak R. The efficacy and safety of Dermagraft in improving the healing of chronic diabetic foot ulcers: results of a prospective randomized trial. Diabetes Care 2003; 26(6): 1701-5.
13. Wong T, McGrath JA, Navsaria H. The role of fibroblasts in tissue engineering and regeneration. Br J Dermatol 2007; 156(6): 1149-55.
14. Gibbs S, van den Hoogenband HM, Kirtschig G, Richters CD, Spiekstra SW, Breetveld M, et al. Autologous full-thickness skin substitute for healing chronic wounds. Br J Dermatol 2006; 155(2): 267-74.

Journal of Isfahan Medical School Received: 15.11.2014

Vol. 32, No. 315, 4th Week, February 2015 Accepted: 19.01.2015

Treatment of Recalcitrant Diabetic Ulcers with Trichloroacetic Acid and Fibroblasts; Case Report

Mohammad Ali Nilforoushzadeh MD[1], Fariba Jaffary MD[2], Mansour Siavash MD[3], Asieh Heidari MSc[4], Nazli Ansari MD[5], Amir Hossein Siadat MD[6]

Case Report

Abstract

Background: Foot ulcer, with a prevalence of 15% in general population, is one of the main complications in patients with diabetes. So far, different therapeutic methods have been provided for the treatment of foot ulcers. When no response to the standard treatment methods is observed, other methods would be applied.

Case Report: In this report, we introduce two men with type 2 diabetes mellitus and recalcitrant diabetic foot ulcer who were treated with topical 50% trichloroacetic acid solvent and autologous fibroblasts. The treatment resulted in complete healing of foot ulcers in both patients.

Conclusion: Trichloroacetic acid and autologous fibroblast can be considered as therapeutic choice for recalcitrant diabetic foot ulcer.

Keywords: Trichloroacetic Acid, Autologous Fibroblasts, Recalcitrant diabetic ulcer

Citation: Nilforoushzadeh MA, Jaffary F, Siavash M, Heidari A, Ansari N, Siadat AH. **Treatment of Recalcitrant Diabetic Ulcers with Trichloroacetic Acid and Fibroblasts; Case Report.** J Isfahan Med Sch 2014; 32(315): 2252-9

*The English version of this article has been previously published in J Skin Stem Cell: 2014, Vol 1, No: 2.

1- Associate Professor, Skin and Stem Cell Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
2- Associate Professor, Skin Diseases and Leishmaniasis Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan AND Skin and Stem Cell Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
3- Associate Professor, Isfahan Endocrine and Metabolism Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
4- Skin Diseases and Leishmaniasis Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
5- General Practitioner, Researcher, Skin Diseases and Leishmaniasis Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
6- Assistant Professor, Skin Diseases and Leishmaniasis Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
Corresponding Author: Fariba Jaffary MD, Email: jaffary@pharm.mui.ac.ir

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. 315, 4th week, February 2015

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.