گزارش کوتاه مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان دوره دهم، شماره اول، بهار ۱۳۹۰، ۶۸–۶۲

توزیع فراوانی مولدین آنزیم بتالاکتاماز در ایزولههای اشرشیاکلی جدا شده از بیماران مبتلا به عفونتهای ادراری در بیمارستان علی ابن ابیطالب (ع) دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان مهناز تشکری ا، مهرداد فرخنیا از نین ضیاءشیخ الاسلامی ا طاهره میرزایی ا حسن یوسفی ا فرحناز مختاری ا علیرضا محی الدینی ا

چکیده

زمینه و هدف: امروزه علی رغم دستیابی به آنتی بیوتیکهای متنوع، مقاومت دارویی اوروپاتوژنها در حال فزونی است. یکی از شایع ترین سازو کارها در مقاومت باکتریهای گرم منفی، تولید آنزیم وسیع الطیف بتالاکتاماز است. در این مطالعه به بررسی میزان مولدین آنزیم وسیع الطیف بتالاکتاماز در ایزولههای اوروپاتوژن اشرشیاکلی جدا شده از نمونههای ادراری بیماران سرپایی مراجعه کننده به آزمایشگاه بیمارستان علی ابن ابیطالب (ع) دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان و مقاومت دارویی آنها به آنتی بیوتیکهای جدید پرداخته شده است.

مواد و روشها: در این مطالعه توصیفی در طی ۵ ماه، تعداد ۱۴۶ ایزوله اروپاتوژن اشرشیاکلی از تعداد ۱۶۳۴ نمونه ادرار مشکوک به عفونت ادراری مورد بررسی قرار گرفت. ایزولهها بر اساس روشهای استاندارد تعیین هویت شده و حساسیت آنتیبیوتیکی آنها نسبت به آنتیبیوتیکهای مختلف با روش انتشار در دیسک بررسی گردید. ایزولههای مقاوم به سفالوسپورینهای نسل سوم، از نظر تولید آنزیم وسیعالطیف بتالاکتاماز با روش Double Disc Synergy Test و مقاومت نسبت به آنتیبیوتیکهای سفهیم-ایمی پنم و مروپنم مورد ارزیابی قرار گرفتند.

یافته ها: مجموعاً ۱۹/۸۶٪ ایزوله ها نسبت به سفالوسپورین های نسل سوم مقاومت نشان دادند که ۱۰/۲۷٪ آنها از نظر تولید آنزیم بتالاکتاماز مثبت بودند. همچنین در ایزوله های مولد آنزیم بتالاکتاماز به درجاتی مقاومت چند دارویی مشاهده شد ولی ۱۰۰٪ موارد، حساسیت نسبت به آنتی بیوتیک های مروپنم – ایمی پنم نشان دادند در صورتی که در ۲۶/۶۶٪ موارد حساسیت به سفییم دیده شد.

نتیجه گیری: ایزولههای مولد بتالاکتاماز علی رغم مقاومت بالا و چند دارویی، حساسیت بالایی نسبت به مروپنم و ایمی پنم نشان دادند که بهتر است برای جلوگیری از بروز مقاومت، از این دو آنتی بیوتیک به جا استفاده شود.

واژههای کلیدی: آنزیم وسیعالطیف بتالاکتاماز، اشرشیاکلی، عفونت ادراری

۱- دکترای بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان

۲- استادیار گروه آموزشی عفونی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان

۳– (نویسنده مسئول) استادیار گروه آموزشی عفونی، دانشگاه علوم پزشکی قم

تلفن: ۰۲۵۱-۷۷۱۳۵۱۱ دورنگار: ۰۲۵۱-۷۷۰۳۶۸۸ پست الکترونیکی: n_sheikholeslam@yahoo.com

۴- كارشناس أزمايشگاه، بيمارستان على ابن ابيطالب (ع)، دانشگاه علوم پزشكى رفسنجان

مهناز تشکری و همکاران

مقدمه

عفونت ادراری، شایعترین عفونت باکتریال و اشرشیاکلی به عنوان عامل اصلی عفونت مطرح است. امروزه درمان عفونتهای اشرشیایی به علت وجود سویههای مقاوم، با مشکلاتی توأم است. تولید آنزیمهای بتالاکتاماز باعث مقاومت میکروارگانیسم در برابر يني سيلين ها، سفالوسيورين ها و مونو باكتامها مي گردد. خانواده آنزیمهای بتالاکتاماز بسیار هتروژن میباشد. غالباً پلاسمیدهای حاوی این آنزیمها، ژنهای مقاومت به سایر آنتیبیوتیکها را نیز با خود حمل میکنند. لذا میکروارگانیسمهای حامل این ژنها در انتقال مقاومت آنتی بیوتیکی نقش عمدهای دارند که آگاهی از اشکال مقاومت منطقهای باکتری اشرشیاکلی، شرط اصلی در درمان میباشد. به دلایل ذکر شده، در سالهای اخیر مطالعات متعددی در مناطق مختلف دنیا بر روی مقاومت أنتى بيوتيكي اين ميكروار گانيسم انجام شده است. نتايج این مطالعات در مجموع، نشانگر افزایش فراوانی اشرشیاکلی مقاوم به چند دارو و همچنین مولدین آنزیم وسیعالطیف بتالاکتاماز میباشد. در بررسی محققین آمریکایی فراوانی مقاومت نسبت به چند دارو در باکتری اشرشیاکلی ۷/۱٪ اعلام شده است [۱]. در ایران هم مطالعاتی در این مورد انجام شده است. در بررسی Moniri در بیماران سرپایی در کاشان، میزان ایزولههای اشرشیاکلی مقاوم به چند دارو ۱۰/۹٪ برآورد شده است [۲]. در بررسی Mehregan از تهران میزان مولدین بتالاکتاماز در بیماران بستری ۶۷/۲٪ گزارش شده است [۳]. از آن جایی که انتخاب داروی مناسب، در درمان تجربی عفونتهای ادراری نیاز به داشتن اطلاعات کافی

نسبت به مقاومت دارویی منطقهای میباشد و نظر به عدم انجام مطالعه در این زمینه در رفسنجان، این مطالعه بر روی ایزولههای اشرشیاکلی جدا شده از بیماران سرپایی که به دلیل عفونت ادراری به بیمارستان علیابنابیطالب (ع) رفسنجان مراجعه نمودند، طراحی گردید.

مواد و روشها

در این مطالعه توصیفی از کشت ۱۶۳۴ نمونه ادرار در طی ۵ ماه در سال ۱۳۸۷ از بیماران سرپایی مراجعه کننده به آزمایـشگاه بالینی بیمارسـتان علـی ابـن ابیطالـب (ع) رفسنجان که تنها بیمارستان عمومی شهرستان میباشد، تعداد ۱۴۶ ایزوله اشرشیاکلی جدا و مورد بررسی قرار گرفت. نمونهها در شرایط استریل و به صورت Mid stream جمع آوری و طبق روش استاندارد کشت داده شدند. كليه ايزولهها بر اساس استاندارد ميكروبشناسي و بيوشيمي تعيين هويت گرديدند. تست حساسيت آنتیبیوتیکی ایزولـههـای اشرشـیاکلی بـا روش انتـشار در دیسک انجام شد. آنتیبیوتیکهای مورد استفاده در این مطالعه شامل جنتامايسين، كانامايسين، كوتريماكسازول، ناليديكسيك اسيد، نيتروفورانتويين، سيپروفلوكساسين، سفالوتین، سفتریاکسون، سفوتاکسیم، سفتازیدیم و سفتی زوکسیم بود. کلیه آنتیبیوتیکهای مورد استفاده از شركت Mast تهيه شد.

برای تشخیص ایزولههای مولد آنـزیم وسیعالطیف بتالاکتاماز از تکنیک به کارگیری دیسکهای مزدوج شامل دیسکهای سفوتاکـسیم (۳۰ میکروگـرم) سفوتاکـسیم و میکروگـرم) و سفپوداکسیم (۱۰ میکروگـرم) به تنهایی و توام با کلاولنیک اسـید اسـتفاده شـد و نتـایج بـر اسـاس توام یا کلاولنیک اسـید اسـتفاده شـد و نتـایج بـر اسـاس توصـیه Clinical Laboratory Standards Institue

(CLSI) گزارش شد [۴]. باکتریهای کلبسیلا پنومونیه ATCC ۲۵۹۲۲ و اشرشیاکلی ATCC ۲۵۹۲۲ به عنوان کنتــرل مثبــت و کنتــرل منفــی بــرای مولــدین أنــزیم وسيعالطيف بتالاكتاماز استفاده شد. مقاومت ايزولههاي مولــد أنــزيم وســيعالطيــف بتالاكتامــاز نــسبت بــه أنتىبيوتيكهاى مروپنم و ايمىپنم از گروه كاربـاپنمهـا و سفپیم از سفالوسپورین نسل چهارم نیز ارزیابی شد. نتایج با نرمافزار SPSS نسخه ۱۳ بررسی شد.

نتايج

در بین انتیبیوتیکهای مورد بررسی، بیشترین حساسیت دارویی نسبت به انتیبیوتیکهای نیتروفورانتویین (۸۷/۷٪)، جنتامایسین (۸۴/۹۴٪)، سفتی زوکسیم (۸۱/۱۴٪) و سیپروفلوکساسین (۸۱/۱۴٪) بود (جدول ۱).

جدول ۱ - درصد مقاومت آنتی بیوتیکی در ۱۴۶ ایزوله اشرشیا کلی

آنتىبيوتيك	درصد مقاومت در ایزولهها
کوتریماکسازول (SXT)	7.87/47
سفالوتين (CF)	'/.Δ \ /٩
کانامایسین (K)	7.44/10
نالیدیکسیک اسید (NA)	7.44/77
سفترياكسون (CRO)	% ~ •/1 ~
سفوتاكسيم (CTX)	/.Y\/·\
سفتازیدیم (CAZ)	% ٢٧/ ۴
سيپروفلوكساسين (CP)	7.71/97
سفتىزوكسيم (CT)	7.19/18
جنتامايسن (GM)	7.10/.8
نيتروفورانتويين (FM)	7.17/٣

در بین ایزولههای مورد مطالعه، ۶/۸۵٪ ایزولهها به تمام آنتی بیوتیکهای مورد بررسی حساسیت نشان دادند. در حالی که در ۱۶/۴۴٪ از ایزولهها مقاومت نسبت به یک آنتی بیوتیک دیده شد و آنتی بیوتیک غالب کوتریماکسازول (SXT) بود (جدول ۲).

جدول ۲- فراوانی مقاومت دارویی ایزوله های اشرشیا کلی مورد مطالعه نسبت به یک یا چند آنتیبیوتیک مورد بررسی

CT	CTX	G	CRO	G 1 5	CD	O. T. COT	C.E.		G3.5	37.4	FD 5	تعداد ايزولههاي	تعداد
		CTX		CRO	CAZ	CP	SXT	CF	K	GM	NA	FM	مقاوم (درصد)*
•	•	•	•	•	•	•		•	•	•	(%9/11) 10	+	
•	•	•	•	•	11	٧	٢	•	۲	٢	(%19/44) 74	١	
•	•	•	•	١	11	۱۹	٩	٢	۲	٢	(%71/61) 49	۲	
•	•	•	١	٢	18	۱۳	٩	٣	٨	٢	(%17/88) 18	٣	
41	۴.	44	۲۸	٣٢	۵۳	۶٧	۴۳	١٧	48	١٢	(%.٣٢/٨٧) ۴٨	بیشتر از ۳	

*: اسامی خلاصه شده در جدول ۱ آمده است.

در این مطالعه، فراوانی ایزولههای مقاوم به چند دارو زیاد بود به طوری که ۴۵/۲٪ ایزولهها به سه یا بیشتر از

سه آنتی بیوتیک مقاوم بودند. در بین ایزوله های مورد بررسی، ۱۹/۸۶٪ به سفالوسپورینهای نـسل سـوم مقـاوم. مهناز تشکری و همکاران

بودند که از میان ایسها ۱۰/۲۷٪ موارد، با تستهای تأییدی به عنوان مولدین آنـزیم وسیعالطیف بتالاکتامـاز شناخته شدند. ایزولههای مولد Extended Spectrum Beta مولد Lactamase (ESBL) سیپروفلوکساسین، کوتریماکسازول و سفالوتین به ترتیب سیپروفلوکساسین، کوتریماکسازول و سفالوتین به ترتیب ارزیابی حساسیت دارویی ایزولههای مولد آنزیم بتالاکتامـاز نسبت به آنتـیبیوتیـکهای مـروپنم و ایمـیپـنم، ۱۰۰٪ حساسیت دیده شد. در صورتی که ۲۶/۶۶٪ ایزولهها نسبت به سفییم و ۴۶/۶۶٪ از ایزولههای مولـد آنـزیم بتالاکتامـاز نسبت به آمیکاسین حساس بودند.

بحث

بر اساس نتایج بدست آمده در این تحقیق، میزان مقاومت آنتیبیوتیکی نسبتاً بالا در ایزولههای مورد مطالعه دیده شد. میزان مقاومت دارویی کل ایزولههای مورد بررسی نسبت به آنتیبیوتیکهای کوتریماکسازول، سفالوتین و سفتریاکسون به ترتیب ۲۳/۳٪ گزارش گردیده است. مقاومت نسبتاً زیاد به کوتریماکسازول در این مطالعه با نتایج مطالعه نتایج مطالعه انتایج مطالعه ادراری کوتریماکسازول در این مطالعه با نتایج مطالعه ادراری کوتریماکسازول را در عوامل اتیولوژیک عفونتهای ادراری کوتریماکسازول را در عوامل اتیولوژیک عفونتهای ادراری در اطفال ۲/۶۲٪ اعلام کرده است و مطالعه اشرشیاکلی را در عوامل گرده است و مطالعه ترتیب ۸۱/۸ ٪ و نسبت به آنتیبیوتیک کوتریماکسازول به ترتیب ۸۱/۸ ٪ و نسبت به آنتیبیوتیک کوتریماکسازول به ترتیب ۸۱/۸ ٪ و مقاومت بیه آنتیبیوتیک کوتریماکسازول به ترتیب ۸۱/۸ ٪ و مقاومت بیه آنتیبیوتیک کوتریماکسازول به ترتیب میزان مقاومت بیه آنتیبیوتیک های سفتریاکسون و مقاومت بیه آنتیبیوتیک های سفتریاکسون و میپروفلوکساسین در بررسی حاضر در مقایسه با نتایج

مطالعه Tabatabaii بیشتر است که شاید بتوان دلیل آن را انجام مطالعه ایشان در اطفال دانست. مقاومت نسبت به انتیبیوتیکهای سفتریاکسون و سیپروفلوکساسین در بررسی حاضر در مقایسه با مطالعه Mehregan کمتر گزارش شده است که شاید بدین علت باشد که مطالعه وی در بیماران بستری انجام شده است. در این مطالعه میـزان مولـــدین آنـــزیم بتالاکتامـــاز در بـــین ایزولـــههـــای اشرشیاکلی۱۰/۲۷٪ گزارش گردیده است. به طور کلی در مورد فراوانی مولدین آنزیم بتالاکتامـاز در دنیـا، گزارشـات متفاوتی وجود دارد به طوری که این میازان در فلسطین اشغالی ۱۲٪ و در مصر ۶۰/۹٪ گزارش شـده اسـت [۷–۶]. بررسی Supriya و همکاران میـزان مولـدین ESBL را در بین ایزولههای اشرشـیا مولـد عفونـتهـای ادراری ۱۸/۵٪ گـزارش کـرده اسـت [۸]. ميـزان مولـدين بتالاكتامـاز در بیماران بستری در یکی از بیمارستانهای تهران بر اساس مطالعه PV/۲ Mehregan/ اعلام شده است [۳]. بررسی Bazaz و همكاران در ايـران نيـز فراوانـي ۵۲/۲٪ مولـدين آنـزیم بتالاکتامــاز را در بــین ایزولــههــای اشرشــیاکلی و کلبسیلا مورد مطالعه از بیماران بستری و سرپایی نشان میدهد، اگرچه این میزان در بیماران سرپایی ۱۰٪ گزارش شده است [۹]. بررسی Neelam و همکاران میزان مقاومت نسبت به چند دارو را در ایزولههای اشرشیاکلی ۳۰/۶٪ گزارش نموده است [۱۰]. اگرچه نتایج مطالعـه حاضـر بـا مطالعات در خاورمیانه و نتایج بررسی Bazaz در بیماران سرپایی همخوانی دارد، ولی در مقایسه با گزارش Mehregan بسیار کمتر است که مربوط بـه بررسـی در دو گروه بیماران سرپایی و بستری در این دو مطالعه میباشد.

ملاحظهای ایزوله اشرشیاکلی مقاوم به چند دارو مشاهده شد که هشداری برای دقت بیشتر در درمان آنتی بیوتیکی عفونتهای ادراری است.

نتىجەگىرى

از آن جایی که نتایج حاصل از این مطالعه، میزان مقاومت آنتی بیوتیکی نسبتاً بالا در ایزولههای مورد بررسی را نشان میدهد و همچنین مؤید مقاومت چند دارویی در مولدين أنزيم بتالاكتاماز مىباشد، لـذا لازم است ضمن دقت در درمان دارویی عفونتهای ادراری در موارد مقاومت دارویی، بررسی از نظر وجود مولدین آنزیم بتالاكتاماز مورد توجه قرار گيرد. ضمناً با توجه به حساسیت ۱۰۰٪ ایزوله ها نسبت به آنتی بیوتیک های مروینم و ایمی پنم، بهتر است از استفاده نابجای این آنتی بیوتیکهای وسیعالطیف جداً خودداری شود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله از زحمات پرسنل زحمت کش آزمایشگاه بيمارستان على ابن ابيطالب (ع) رفسنجان تشكر مي نمايند. مشاهده میزان مقاومت توأم آنتیبیوتیکی در ایزولههای مولد آنزیم بتالاکتاماز در این مطالعه با نتایج سایر تحقیقات هم خوانی دارد و نشانگر انتقال توأم ژنهای مقاومت به سایر گروههای آنتیبیوتیکی به همراه ژن بتالاكتاماز مى باشد. ميزان حساسيت بالاى ايزولههاى مولدين أنزيم بتالاكتاماز نسبت به نيتروفورانتويين Mehregan در این مطالعه دیده شد که با نتایج (/.۸۶/۶۷) که حساسیت را ۹۴/۷٪ گزارش کرده است همخوانی دارد [۳]. بر اساس یافتههای آزمایشگاهی در این مطالعه، أنتى بيوتيكهاى ايمى پنم و مروپنم مؤثر ترين أنتى بيوتيك برای این دسته از میکروار گانیسمها بودند که این بررسی با نتایج محققین دیگر همخوانی دارد [۱۰، ۳]. سفییم فعالیت قابل توجهی بر علیه مولدین بتالاکتاماز نداشت که این یافته در گزارش Mehregan و همکاران نیز دیده شده است [۳]. مصرف این آنتیبیوتیک برای درمان تجربی عفونتهای ایجاد شده توسط باکتریهای گرم منفی در مراكزى كه شيوع مولدين أنزيم بتالاكتاماز بالاست، توصيه نمے شود. در مجموع، در این بررسے درصد قابل

References

- [1] Sahm DF, Thornsberry C, Mayfiell DC, Jones ME, Karlowsky JA. Multidrug-resistant urinary tract isolates of Escherchia Coli: prevalence and patient demographics in the United State in
- Antimicrob Agents and chemother 2001; 45(5): 1402-6.
- [2] Moniri R, Khorshidi A, Akbari H. Emergency of multidryg resistant strains of Escherchia coli isolated

مهناز تشکری و همکاران

- from urinary tract infections. *Irn J Publ Health* 2003; 32(4): 42-6.
- [3] Mehregan H, Rahbar M. Prevalence of extended– spectrum beta-lactomase-producing Escherchia coli in teritary care hospital in Tehran, Iran. *Intr J Antimicrob Agent* 2008; 31(2): 147-51.
- [4] National committee for clinical laboratory standards. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Fourteenth informational supplement. Document M100-S14, Wayne PA: NCCLS, 2004
- [5] Tabatabaii T. Frequency and antimicrobial susceptibility of bacteria isolated from Urine, stool, and blood cultures of Rafsanjan University of Medical Sciences Laboratories during 2003. *JRUMS* 2008l 7(2): 105-11. [Farsi]
- [6] Navon-Venezia S, Hammer-Munz O, Schwartz D, Turner D, Kuzmenko B, Carmeli Y. Occurance and phenotypic characteristics of extended-spectrum beta-lactamases among members of the family Enterobacteriaceae at Tel-Aviv Medical Center

- (Israel0 and evaluation of diagnostic tests. *J Clin Microbiol* 2003; 41(1): 155-8.
- [7] Mohammad Al-Agamy MH, El-Din Ashour MS, Wiegand I. First description of CTX-M betalactamase-producing clinical Escherichia coli islates from Egypt. Int J Antimicrob Agents 2006; 27(6): 545-8.
- [8] Supriya S, Tankhiwale SV, Sarfaz A, Umesh H. Evaluation of extended spectrum beta lactamase in urinary isolates. *Indian J Med Res* 2004; 120: 553-6.
- [9] Bazzaz BS, Naderinasab M, Mohamadpoor AH, Farshadzadeh Z, Ahmadi S, Yousefi F. The prevalence of extended-spectrum beta-lactamaseproducing Escherchia coli and Klebsiella pneumonia among clinical isolates from a general hospital in Iran. Acta Microbiol Immunol Hung 2009; 56(1): 89-99.
- [10] Taneja N, Rao P, Arora J, Dogra A. Occurance of ESBL Amp-C beta-lactamases and susceptibility to newer antimicrobial agents in complicated UTI. *Indian J Med Res* 2008; 127(1): 85-8.

Evaluation of Producing Extended Spectrum β-lactamase among Isolated **Escherchia Coli from Patients Suffering from Urinary Tract Infections:** (Short Report)

M. Tashkori¹, M. Farokhnia², N. Zia Sheikhaleslami³, T. Mirzaei⁴, H. Yosefi⁴, F. Mokhtari⁴, A. Mohyadini⁴

Received: 22/04/10 Sent for Revision: 13/06/10 Received Revised Manuscript: 30/08/10 Accepted: 12/10/10

Background and Objectives: Despite the widespread availability of antibiotics, antibiotic resistance in uropathogens is increasing. The most common mechanism in the antibiotic resistance is production of extended spectrum B-lactamase (ESBL). In this study, the presence of producing ESBL among isolated Escherchia Coli from patients suffering from urinary tract infections in Ali-Ebne Abitaleb hospital (Rafsanjan, Iran) as well as their sensitivity to newer antibiotics were evaluated.

Material and methods: In this descriptive study, 146 Escherchia Coli were collected from 1634 urine samples of suspected patients with urinary tract infection. Isolated organisms were identified by standard biochemical and microbial tests. Antibiotic susceptibility test was done by disc diffusion method. Isolated E coli that were resistant to third generation cephalosporines were tested for ESBL phenotype by double disc synergy test method. Their susceptibility to imipenem, meropenem and cefepime were also determined.

Results: Totally, 19.86% of the isolated E coli showed resistance to third generation cephalosporines and 10.27% of them were ESBL producer. Also ESBLs E Coli showed co-resistance to other antibiotics. Susceptibility to imipenem, meropenem were 100%, and cefepime 26.66% respectively.

Conclusion: ESBL producer isolated Escherchia Coli had resistance to many different antibiotics, but it showed high susceptibility to imipenem and meropenem. So in order to prevent any resistance, we should use these antibiotics correctly.

Key words: Extended Spectrum B-lactamase(ESBL), Escherchia Coli, Urinary Infection

Funding: This research was funded by Research Council of Rafsanjan University of Medical Sciences.

Conflict of interest: None declared.

Ethical Approval: The Ethics Committee of Rafsanjan University of Medical Sciences, approved the study.

How to cite this article: Tashkori M, Farokhnia M, Zia Sheikhaleslami N, Mirzaei T, Yosefi H, Mokhtari F, Mohyadini A. Evaluation of Producing Extended Spectrum β-lactamase among Isolated Escherchia Coli from Patients Suffering from Urinary Tract Infections: (Short Report). J Rafsanjan Univ Med Sci 2011; 10(1): 62-68. [Farsi]

¹⁻ PhD of Biotechnology, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran

²⁻ Assistant Prof., Dept. of Infectious Disease, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

³⁻ Assistant Prof., Dept. of Infectious Disease, Qom University of Medical Sciences, Qom, Iran

Corresponding Author, Tel: (0251) 7713511, Fax: (0251) 7703688, E-mail: n_sheikholeslam@yahoo.com

⁴⁻ Bachelor of Sciences in Laboratory, Ali-ebne Abitaleb Hospital, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran