

## الگوی مقاومت باسیل‌های گرم منفی در مبتلایان به عفونت بیمارستانی با روش E-Test و مقایسه با روش دیسک دیفیوژن

### چکیده

آذر حدادی<sup>۱\*</sup>

مهرناز رسولی نژاد<sup>۱</sup>

زهره ملکی<sup>۲</sup>

مجتبی مجتهد زاده<sup>۳</sup>

مسعود یونسیان<sup>۴</sup>

سید علی احمدی<sup>۲</sup>

حمیده باقریان<sup>۵</sup>

۱- گروه عفونی

۲- گروه پاتولوژی

۳- کلینیکال فارماکولوژی

۴- اپیدمیولوژی

۵- پژوهشگر

\* نویسنده مسئول، نشانی: خیابان امام خمینی، میدان حسن  
آباد، بیمارستان سینا، تلفن: ۶۶۷۱۶۵۴۶  
email: hadadiaz@tums.ac.ir

**زمینه و هدف:** تعیین الگوی مقاومت باسیل‌های گرم منفی شایع عفونت بیمارستانی با روش دیسک و E-Test و مقایسه نتایج این دو روش بررسی: مطالعه به صورت توصیفی مقطعی در سال ۱۳۸۴-۱۳۸۳ در بیمارستانهای سینا و امام خمینی تهران بر روی عفونت‌های بیمارستانی با میکروب‌های کلبسیلا، پseudomonas، آسیتوباکتر و اشریشیا کلی انجام شد و الگوی مقاومت با روش E-Test برای ایمی‌پنم، سفنازیدیم، سپیروفلوکساسین، سفپیم و سفتریاکسون بررسی و نتایج با دیسک دیفیوژن مقایسه شد. یافته‌ها: فراوانترین میکروبها عبارت بودند از: کلبسیلا (۴۰٪)، pseudomonas (۲۸٪)، آسیتوباکتر (۲۰٪) و اشریشیا کلی (۱۲٪). فعالترین آنتی‌بیوتیکها به ترتیب، ایمی‌پنم (۸۴٪)، سفپیم (۲۶٪)، سپیروفلوکساسین (۲۶٪)، سفنازیدیم (۲۰٪) و سفتریاکسون (۱۰٪) بوده است. حساسیت کلبسیلا به ایمی‌پنم ۹۱٪، سفپیم ۲۵٪، سپیروفلوکساسین ۲۱٪، سفنازیدیم ۱۳٪ و سفتریاکسون ۷٪ بوده است. حساسیت E-coli به ایمی‌پنم ۹۱٪، سفتریاکسون ۲۱٪، سفنازیدیم ۲۱٪، سفپیم ۱۹٪ و سپیروفلوکساسین ۱۷٪ بوده است. برای pseudomonas حساسیت ایمی‌پنم (۷۵٪) و سپیروفلوکساسین (۳۹٪) بوده است. حساسیت آسیتوباکتر به ایمی‌پنم ۷۷٪ و سپیروفلوکساسین ۲۱٪ بوده است. در مقایسه روش دیسک دیفیوژن با روش E-Test در سوشهای مقاوم نسبتاً دو تست هم‌خوانی داشته‌اند.

**نتیجه‌گیری:** روند مقاومت در میکروبهای گرم منفی در حال افزایش است و لازم است هرچه سریعتر سیاستی برای پیشگیری از ایجاد مقاومت در بیمارستانها اتخاذ گردد. گرچه E-test روش بهتری برای ارزیابی مقاومت میکروبی می‌باشد اما مطالعه ما نشان داد که روش دیسک نیز در بیشتر مواقع نتایج مشابه می‌دهد و همچنان قابل استفاده می‌باشد.

**کلمات کلیدی:** عفونت بیمارستانی، مقاومت میکروبی، باسیل گرم منفی، E-test

### مقدمه

بیماران در بخش مراقبت ویژه ۷-۵ بار بیشتر از سایر بیماران بستری دچار عفونت بیمارستانی می‌شوند که دلیل آن مختل شدن دفاع بیماران، استفاده از روش‌های تهاجمی و مانتیورینگ، تماس با آنتی‌بیوتیکهای وسیع‌الطیف و کلونیزاسیون میکروب‌های مقاوم می‌باشد. کاربرد وسیع آنتی‌بیوتیکها که اغلب به صورت تجربی (empiric) برای پوشش شایع‌ترین میکروب‌های ایجاد کننده عفونت بیمارستانی بکار می‌روند منجر به کلونیزاسیون با میکروب‌های گرم منفی مقاوم و متعاقباً خطر ایجاد عفونت‌های جدی با میکروب‌های مقاوم را برای بیماران به همراه دارد.<sup>۱،۲،۳</sup> در مطالعات مختلف شیوع مقاومت میکروبی متفاوت بوده است. در مطالعه ترکیه میزان

امروزه پیشرفت علم، شناخت داروهای جدید، کاربرد داروهای وسیع‌الطیف، استفاده از کاتترهای عروقی، کاتترهای ادراری و شانت‌های مغزی و استفاده از دستگاه تهویه مکانیکی علی‌رغم کمک به نجات بیماران، موجب مشکلاتی مانند بروز عفونت‌های بیمارستانی، بخصوص در بیماران بستری در ICU که به دلیل وخامت حال عمومی و بیماریهای زمینه‌ای، معمولاً مجموعه‌ای از این وسایل کمکی برای آنها استفاده می‌شود، می‌گردد. طبق مطالعات ۱۵-۵٪ بیماران بستری در بیمارستانها به عفونت بیمارستانی مبتلا می‌شوند.<sup>۱</sup>

عفونت شناخته شده دیگری با همان ارگانیزم در جای دیگر می‌باشد.<sup>۷</sup>

نمونه‌ها شامل نمونه خون، ترشحات تراشه (که از طریق برونکوسکوپی و یا از طریق ساکشن ترشحات تراشه بیماران مبتلا به پنومونی بدست آمد)، مایع مغزی نخاعی، نوک کاتتر ورید مرکزی، محل زخم بستر و محل عمل جراحی (SSI) Surgical Site Infection و ادرار بوده است. حجم نمونه حداکثر برای بدست آوردن شیوع باکتریهای شایع عفونت بیمارستانی با در نظر گرفتن شیوع ۵۰٪ برای شایع‌ترین ارگانیزم و  $\alpha = 0.05$  و خطای ۵٪، ۳۸۴ بدست آمد. نمونه بیماران در محیط مولر هیتون آگار ساخت شرکت مرک آلمان کشت داده شد و در صورت مثبت بودن از نظر باکتریهای گرم منفی مورد مطالعه آنتی‌بیوگرام روی آن‌ها انجام شد. حساسیت میکروب‌های کلبسیلا و E-coli به پنج آنتی‌بیوتیک ایم‌پنم، سفپیم، سفنازیدیم، سپروفلوکساسین و سفتریاکسون و در مورد پسودوموناس و آسیتوباکتر به جز سفتریاکسون چهار آنتی‌بیوتیک دیگر بررسی شد.

روش بررسی حساسیت، تعیین Minimal Inhibition Concentration (MIC) با روش E-test (AB Biodisc, Sweden) بوده است. ارزیابی اعتبار کیت‌های E-test برای هر میکروارگانیزم در مقایسه با مقادیر MIC با دو روش رفرانس Agar dilution و Broth Microdilution و بر طبق استانداردهای National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) تعیین شده است.<sup>۸</sup> در صورتی که مقادیر بدست آمده به روش E-test در مقایسه با روشهای رفرانس بیش از ۹۰٪ با یکدیگر همخوانی داشته باشد، اصطلاحاً گفته می‌شود که E-test با روش رفرانس NCCLS مطابقت (Essential Agreement) دارد که در مورد آنتی‌بیوتیک‌های مورد آزمایش ما در همگی موارد Essential Agreement (EA) بیش از ۹۰٪ بوده است و لذا روش E-Test با روشهای استاندارد تعیین MIC هم‌خوانی داشته است. به منظور کنترل شرایط و محیطهای آزمایش، اولاً سعی شده است از مواد اولیه استاندارد و قابل اعتماد و شرایط محیطی مناسب استفاده شود و همگی آزمایشات نیز توسط یک نفر کارشناس ارشد با تجربه میکروشناسی انجام و نتایج خوانده شد. ثانیاً برای کنترل کیفی شرایط آزمایشگاه به کمک آزمایشگاه رفرانس ایران دو نوع سویه میکروبی استاندارد دارای کد ATCC تهیه شده است E.coli: Code # ۲۵۹۲۲ATCC برای کنترل محیط کشت و E-Test میکروب

حساسیت کلی به ایم‌پنم ۶۸٪ بوده که فعال‌ترین دارو بوده است.<sup>۴</sup> در مطالعه‌ای در اسپانیا، بیشتر از ۸۰٪ موارد مقاومت به سپیروفلوکساسین و نسل سوم سفالوسپورینها گزارش شده است.<sup>۵</sup> در مطالعه بلژیک ۳۱٪ مقاومت به سفتریاکسون، ۱۷٪ به سفنازیدیم، ۱۰٪ به سفپیم، ۱۳٪ به ایم‌پنم و ۲۱٪ مقاومت به سپیروفلوکساسین گزارش شد.<sup>۶</sup> بنابراین شناخت و تشخیص به موقع عفونت‌های بیمارستانی و مقاومت آنتی‌بیوتیکی، همچنین استفاده صحیح از آنتی‌بیوتیک‌ها برای کاهش ایجاد مقاومت دارویی از مهمترین اصولی است که در هر بیمارستان و به ویژه بخش‌های مراقبت‌های ویژه باید به آن پرداخته شود، که این مهم موجب کاهش بستری شدن طولانی مدت بیماران و کاهش مرگ و میر و هزینه‌های اقتصادی سنگین برای بیماران خواهد شد. از جمله روشهای آنتی‌بیوگرام انجام روش دیسک دیفیوژن می‌باشد که به طور روتین در بیشتر آزمایشگاه‌ها برای نمونه‌های میکروبی انجام می‌شود روش دیگر، E-test می‌باشد که به روش کمی انجام می‌شود و از دقت بالاتر و همچنین هزینه بالاتری نسبت به روش دیسک دیفیوژن برخوردار می‌باشد. هدف مطالعه ما شناخت الگوی مقاومت میکروارگانیزم‌ها با روش E-Test و تعیین اعتبار تست دیسک دیفیوژن به منظور تعیین دقیق مقاومت میکروبی برای اجتناب از مصرف ناصحیح داروهای جدید و گران و درمان بیماران بوده است.

## روش بررسی

این مطالعه به صورت توصیفی مقطعی، در طی سال‌های ۱۳۸۳-۱۳۸۴ در بیمارستان‌های سینا و امام خمینی تهران بر روی میکروبهای گرم منفی شایع عفونت بیمارستانی شامل پسودوموناس، آسیتوباکتر، کلبسیلا و E-coli در بخش‌های مختلف انجام شده است. بیمارانی که در زمان مراجعه بیماری‌های عفونی نداشتند و در کمون بیماری عفونی نبوده‌اند و ۷۲-۴۸ ساعت پس از بستری در بیمارستان به تائید متخصص عفونی معیارهای تعریف عفونت بیمارستانی را داشته‌اند، در صورتی که نمونه کشت آنها یکی از باسیل‌های گرم منفی فوق بوده است وارد مطالعه شدند. معیارهای تعریف هر یک از عفونت‌های بیمارستانی مطابق تعاریف مرکز کنترل بیماریهای امریکا (Center of Disease Control (CDC می‌باشد، به عنوان مثال منظور از عفونت خون و یا سپتی سمی اولیه کشت خون مثبت بدون هیچ

نمونه وارد مطالعه شده است. میانگین سنی بیماران  $21/6 \pm 4/4$  سال و ۱۶۴ مورد (۶۰/۷٪) مذکر بودند. اکثریت بیماران این مطالعه (۶۸/۹٪) از بخش ICU جنرال و ما بقی از بخشهای جراحی (۶/۶٪)، ارتوپدی (۵/۸٪)، ICU جراحی اعصاب (۶/۳٪)، بخش جراحی اعصاب (۳/۷٪) و سایر بخشها (۸/۷٪) بوده‌اند. بیشترین نمونه‌ها مربوط به خون (۳۳/۲٪)، سپس تراشه (۲۳/۹٪)، محل زخم جراحی (۱۸/۹٪) و ادرار (۱۶/۳٪) و با فراوانی کمتری سایر نمونه‌ها بوده است. شایع‌ترین عفونت بیمارستانی سپتی‌سمی اولیه با ۱۰۸ مورد (۲۸/۴٪)، پنومونی با ۹۸ مورد (۲۵/۸٪)، عفونت محل عمل جراحی با ۷۱ مورد (۱۸/۷٪) و UTI با ۶۳ مورد (۱۶/۶٪) بوده است. فراوانی عوامل میکروبی عفونت‌های بیمارستانی در این مطالعه عبارت بودند از: کلبسیلا ۱۵۱ مورد (۳۴/۸۲-۴۴/۸۷٪ CI: ۹۵٪، ۳۹/۷٪)، پseudomonas ۱۰۷ مورد (۲۳/۷۵-۳۳/۰۲٪ CI: ۹۵٪، ۲۸/۲٪)، آسیتوباکتر ۷۵ مورد (۱۵/۹۳-۲۴/۱۷٪ CI: ۹۵٪، ۱۹/۷٪) و اشریشیا کلی ۴۷ مورد (۹/۳۱-۱۶/۲۱٪ CI: ۹۵٪، ۱۲/۴٪) بوده است. فراوانترین میکروب مولد عفونت ادراری؛ پseudomonas (۳۶/۵٪)، پنومونی؛ کلبسیلا (۳۷/۸٪)، عفونت محل عمل جراحی؛ پseudomonas (۴۲/۳٪) و در سپتی‌سمی؛ اولیه کلبسیلا (۵۲/۸٪) بوده است. از نظر سابقه مصرف آنتی‌بیوتیک‌های مورد مطالعه، برای ۶۷/۴٪ از بیماران حداقل یکی از آنتی‌بیوتیک‌های مورد مطالعه قبل از انجام کشت تجویز شده بود، که به ترتیب فراوانی مصرف، سفتریاکسون (۴۵/۲٪)، سفنازیدیم (۳۶/۳٪)، سیپروفلوکساسین (۱۷٪)، ایمپنم (۶/۷٪) و سفپیم (۳/۷٪) تجویز شده بود. از این میان ۶۰/۴۳٪ بیماران برای بیش از هفت روز، ۲۵/۳٪ بین سه تا هفت روز و ۱۴/۳٪ کمتر از سه روز آنتی‌بیوتیک دریافت نموده بودند. مقاومت سه دارویی در ۶۵٪ نمونه‌ها دیده شد، که برای آسیتوباکتر ۸۲/۷٪، پseudomonas ۶۰/۷٪، E-coli ۶۶٪ و کلبسیلا ۵۸/۹٪ بوده است. در مجموع حساسیت نمونه‌ها به ایمپنم ۸۳/۹٪، سفپیم ۲۶/۱٪، سیپروفلوکساسین ۲۵/۸٪، سفنازیدیم ۱۹/۷٪ و به سفتریاکسون ۱۰/۱٪ بوده است. ایمپنم فعال‌ترین آنتی‌بیوتیک برای تمام میکروب‌ها بوده است بطوری که حساسیت کلبسیلا ۹۱/۴٪، پseudomonas ۷۴/۸٪، آسیتوباکتر ۷۷/۳٪ و E. coli ۹۱/۵٪ بوده است (جدول شماره ۱). در بررسی مقاومت متقابل (Cross-resistancy) این نتایج بدست آمد: که ۱۵/۵٪ نمونه‌های مقاوم به سفپیم، ۱۲/۷٪ مقاوم به سفنازیدیم، ۹/۳٪

کلبسیلا و E.coli و Pseudomonas ATCC # ۲۷۸۵ Code به عنوان کنترل محیط کشت و E-Test میکروب آسیتوباکتر و پseudomonas استفاده شد. علاوه بر کنترل کیفی روش E-test، نتایج حاصله با جداول مخصوص تعیین محدوده‌های رشد میکروبی که توسط آزمایشگاه رفرانس ارائه شده بود مقایسه شده است که در همگی موارد نتایج در محدوده قابل قبول بوده و لذا شرایط انجام آزمایشات نیز در دامنه قابل قبول بوده است. نتایج استریپ‌ها بر روی نمونه‌های استاندارد کنترل با نتایج زیر مقایسه شد: سفپیم برای E.Coli (۰/۰۶۴-۰/۰۱۶) و پseudomonas (۱-۴)، سفنازیدیم برای E.Coli (۰/۰۶۴-۰/۰۵) و برای پseudomonas (۱-۴)، برای E.Coli سفتریاکسون (۰/۱۲۵-۰/۰۳۲)، ایمپنم (۰/۰۶۴-۰/۰۲۵) و پseudomonas (۱-۴) و سیپروفلوکساسین برای پseudomonas (۰/۲۵-۱) بوده است. نمونه‌ها پس از ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه خوانده شدند. نحوه گزارش MIC بر اساس گزارش نقطه‌ای تلاقی هلال مهار رشد با نوار E-Test بود. نتایج بدست آمده از E-Test در آزمایشگاه با اعداد جدول استاندارد NCCLS مقایسه شدند. روش دیگر استفاده از دیسک دیفیوژن بود که روش رایج بررسی آنتی‌بیوگرام در آزمایشگاه‌ها می‌باشد و کیت‌ها از شرکت High Media هندوستان تهیه شد. همچنین تمام بررسی‌های توصیفی و تحلیل‌های تک متغیره با نرم‌افزار SPSS ویراست ۱۱/۵ انجام شده است. برای توصیف متغیرهای کیفی فراوانی و فراوانی نسبی و حدود اطمینان ۹۵٪ آن محاسبه و گزارش شده است. همچنین در مورد متغیرهای کمی شاخص‌های آماری مرکزی و پراکندگی ارائه شده‌اند. برای بررسی اعتبار آزمون دیسک دیفیوژن، نتیجه روش E-test به عنوان استاندارد طلایی در نظر گرفته شد و حساسیت، ویژگی، ارزش اخباری مثبت و منفی این تست محاسبه و با حدود اطمینان ۹۵٪ گزارش شد.

## یافته‌ها

در این مطالعه در مجموع ۳۸۰ نمونه بالینی از ۲۷۰ بیمار بستری مبتلا به عفونت بیمارستانی در بیمارستان‌های سینا و امام خمینی تهران به دست آمد. به گونه‌ای که ۲۰۰ نمونه از ۱۳۶ بیمار از بیمارستان سینا (۵۰/۴٪) و ۱۸۰ نمونه از ۱۳۴ بیمار از بیمارستان امام (۴۹/۶٪) بود. از ۱۹۳ بیمار، یک نمونه، از ۵۹ بیمار دو نمونه، از ۱۲ بیمار، سه نمونه و از چهار بیمار، پنج نمونه و از یک بیمار، نیز ۱۰

از مقایسه دو تست دیسک دیفیوژن با E-test برای ارزیابی اعتبار دیسک دیفیوژن استفاده شد که نتایج به شرح ذیل می‌باشد: حساسیت دیسک در تشخیص مقاومت به ایمی پنم ۷۲٪ و ویژگی آن ۹۰٪، سفیم آن ۹۹٪ و ویژگی آن ۶۶٪، برای سفنازیدیم حساسیت ۹۸٪ و ویژگی آن ۶۲٪، سیپروفلوکساسین حساسیت ۹۶٪ و ویژگی ۴۷٪ و در رابطه با مقاومت به سفتریاکسون، حساسیت دیسک در تشخیص مقاومت ۸۸٪ و ویژگی آن ۶۳٪ است (جدول ۲).

مقاوم به سیپروفلوکساسین و ۷٪ نمونه‌های مقاوم به سفتریاکسون به ایمی پنم مقاومت نشان دادند. همچنین ۸۵/۵٪ نمونه‌های مقاوم به سیپروفلوکساسین، ۸۲/۵٪ نمونه‌های مقاوم به سفنازیدیم، ۷۹/۶٪ نمونه‌های مقاوم به ایمی پنم و ۷۷/۸٪ مقاوم به سفتریاکسون به سفیم نیز مقاومت نشان دادند. همچنین ۹۴/۸٪ نمونه‌های مقاوم به سیپروفلوکساسین و ۹۰/۶٪ نمونه‌های مقاوم به سفتریاکسون به سفنازیدیم نیز مقاوم بودند.

جدول ۱: مقایسه الگوی مقاومت میکروارگانیسم‌های مختلف جدا شده از بیماران مبتلا به عفونت بیمارستانی

R(%)	I(%)	S(%)	میکروارگانیسم	نوع آنتی بیوتیک
سفنازیدیم				
۶۶(۶۱/۷)	۷(۶/۵)	۳۴(۳۱/۸)	پسودوموناس	
۳۳(۷۰/۲)	۴(۸/۵)	۱۰(۲۱/۳)	E-coli	
۶۱(۸۱/۳)	۲(۲/۷)	۱۲(۱۶)	آسیتوباکتر	
۱۲۲(۸۷/۴)	-	۱۹(۱۲/۶)	کلسیلا	
۲۹۲(۷۶/۸)	۱۳(۳/۴)	۷۵(۱۹/۷)		جمع
ایمی پنم				
۲۱(۱۹/۶)	۶(۵/۶)	۸۰(۷۴/۸)	پسودوموناس	
۴(۸/۵)	۰	۴۳(۹۱/۵)	E-coli	
۳(۱۷/۳)	۴(۵/۳)	۵۸(۷۷/۳)	آسیتوباکتر	
۱۱(۷/۳)	۲(۱/۳)	۱۳۸(۹۱/۴)	کلسیلا	
۴۹(۱۲/۹)	۱۲(۳/۲)	۳۱۹(۸۳/۹)		جمع
سیپروفلوکساسین				
۶۰(۵۶/۱)	۵(۴/۷)	۴۲(۳۹/۳)	پسودوموناس	
۳۶(۷۶/۶)	۳(۶/۴)	۸(۱۷)	E-coli	
۵۶(۷۴/۷)	۳(۴)	۱۶(۲۱/۳)	آسیتوباکتر	
۹۶(۶۳/۶)	۲۳(۱۵/۲)	۳۲(۲۱/۲)	کلسیلا	
۲۴۸(۶۵/۳)	۳۴(۸/۹)	۹۸(۲۵/۸)		جمع
سفتریاکسون				
۳۷(۷۸/۷)	۰	۱۰(۲۱/۳)	E-coli	
۱۳۴(۸۸/۷)	۷(۴/۶)	۱۰(۶/۶)	کلسیلا	
۱۷۱(۸۶/۴)	۷(۳/۵)	۲۰(۱۰/۱)		جمع
سفیم				
۶۴(۵۹/۸)	۴(۳/۷)	۳۹(۳۶/۴)	پسودوموناس	
۳۵(۷۴/۵)	۳(۶/۴)	۹(۱۹/۱)	E-coli	
۵۲(۶۹/۳)	۱۰(۱۲/۳)	۱۳(۱۷/۳)	آسیتوباکتر	
۱۰۱(۶۶/۹)	۱۲(۷/۹)	۳۸(۲۵/۲)	کلسیلا	
۲۵۲(۶۶/۳)	۲۹(۷/۶)	۹۹(۲۶/۱)		جمع

S=Sensitive, R= Resistance, I=intermediate

جدول ۲: مقایسه شاخص های اعتبار دیسک دیفیوژن در تشخیص مقاومت در آنتی بیوتیک های مورد مطالعه بر حسب سوش های مختلف

آنتی بیوتیک	حساسیت (%)	ویژگی (%)	دقت (%)	ارزش اخباری مثبت (%)	ارزش اخباری منفی (%)
<b>ایمی پنم</b>					
پسودوموناس	۶۸	۹۷	۹۱	۸۷	۹۲
کلسیلا	۷۰	۸۹	۸۷	۳۲	۹۸
آسیتوباکتر	۶۹	۸۱	۷۹	۴۵	۹۲
E-coli	۱۰۰	۹۳	۹۳	۵۷	۱۰۰
<b>جمع</b>	<b>۷۲</b>	<b>۹۰</b>	<b>۸۸</b>	<b>۵۲</b>	<b>۹۶</b>
<b>سفنیم</b>					
پسودوموناس	۱۰۰	۶۳	۹۰	۸۶	۱۰۰
کلسیلا	۹۹	۶۵	۹۰	۸۸	۹۶
آسیتوباکتر	۹۸	۲۷	۸۵	۸۶	۷۵
E-coli	۱۰۰	۸۹	۹۸	۹۷	۱۰۰
<b>جمع</b>	<b>۹۹</b>	<b>۶۶</b>	<b>۹۰</b>	<b>۹۷</b>	<b>۸۸</b>
<b>سفتازیدیم</b>					
پسودوموناس	۹۸	۷۸	۹۳	۹۳	۹۵
کلسیلا	۹۸	۵۹	۹۴	۹۵	۸۳
آسیتوباکتر	۹۷	۳۰	۸۷	۸۹	۶۰
E-coli	۹۷	۶۳	۹۰	۹۱	۸۳
<b>جمع</b>	<b>۹۸</b>	<b>۶۲</b>	<b>۹۲</b>	<b>۸۶</b>	<b>۹۳</b>
<b>سیپروفلوکساسین</b>					
پسودوموناس	۹۲	۴۲	۷۲	۷۰	۷۷
کلسیلا	۹۸	۵۵	۸۸	۸۸	۸۹
آسیتوباکتر	۹۸	۲۵	۸۲	۸۲	۸۰
E-coli	۹۷	۸۸	۹۵	۹۷	۸۸
<b>جمع</b>	<b>۹۶</b>	<b>۴۷</b>	<b>۸۳</b>	<b>۸۳</b>	<b>۸۳</b>
<b>سفتراکسون</b>					
E-coli	۹۲	۵۰	۸۳	۸۷	۶۳
کلسیلا	۸۸	۶۳	۸۶	۹۶	۳۸
<b>جمع</b>	<b>۸۸</b>	<b>۶۳</b>	<b>۸۶</b>	<b>۸۶</b>	<b>۳۸</b>

## بحث

(۲۵/۸٪) بوده است. پنومونی شایع ترین محل عفونت در دیگر مطالعات از جمله در ترکیه (۳۸/۸٪)، هند (۲۹/۵٪) و عمان (۶۵٪) بوده است.<sup>۱۰</sup> و<sup>۹</sup> شیوع سپتی سمی اولیه در ۱۷-۷٪ موارد دیده شده است. شیوع سپتی سمی اولیه در مطالعه ما بیشتر بوده که شاید منفی بودن نمونه های همزمان از سایر قسمت ها و یا نداشتن نمونه خون همزمان از خون کاتتر مرکزی و یا نوک آن موجب بیشتر شدن فراوانی سپتی سمی اولیه شده باشد. همچنین شایع ترین

امروزه در تمام دنیا مقاومت میکروبی در باسیل های گرم منفی یک مشکل رو به افزایش است، بخصوص در بخش های خاص از جمله بخش مراقبت های ویژه، به همین دلیل شناسایی الگوی مقاومت میکروبی در هر بیمارستانی برای موفقیت پزشکان در درمان صحیح بیماران الزامی می باشد. در مطالعه ما شایع ترین عفونت بیمارستانی سپتی سمی اولیه (۲۸/۴٪) و سپس پنومونی

شایع‌ترین میکروب‌ها، پseudomonas (۲۶/۸٪، ۳۶/۶٪) و کلبسیلا (۲۶/۲٪، ۲۰/۶٪) بوده است.<sup>۲۹</sup> در عمان شایع‌ترین میکروب بدست آمده از سیستم تنفسی پseudomonas و شایع‌ترین میکروب ادراری Ecoli بوده است.<sup>۱۱</sup> از نظر سابقه مصرف آنتی‌بیوتیک در مطالعه ما،

میکروب‌های مورد مطالعه ما کلبسیلا و پseudomonas بوده است. همچنین پseudomonas شایع‌ترین میکروب عامل عفونت ادراری (۳۶/۵٪) و کلبسیلا شایع‌ترین میکروب عامل پنومونی (۳۷/۸٪) و سپتی‌سمی (۵۲/۸٪) بوده است. در مطالعات ترکیه و هند نیز

جدول-۳: مقایسه الگوی مقاومت میکروب‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف با مطالعات دیگر بر حسب درصد

مطالعه ما (95% CI, % مقاومت)	ترکیه <sup>(۲۰)</sup>	بلژیک <sup>(۶)</sup>	آمریکا <sup>(۱۹)</sup>	ژاپن <sup>(۱۴)</sup>	ترکیه <sup>(۳)</sup>	عمان <sup>(۱۰)</sup>	
۲۹۲(۷۶/۸; ۷۲/۲-۸۰/۹)	-	۷	-	-	-	-	سفنازیدیم
۶۶(۶۱/۷; ۵۱/۷-۷۰/۸)	-	-	۲۰<	۱۲/۳	۶۰/۵	٪۱۹	پseudomonas
۳۳(۷۰/۲; ۵۴/۹-۸۲/۲)	۳۳/۳	-	-	۰/۵	۲۵	٪۲۳	E-coli
۶۱(۸۱/۳; ۷۰/۳-۸۹/۱)	۵۷/۸	-	۴۰>	۵/۸	۳۸/۹	٪۵۰	آسیتوباکتر
۱۲۲ (۸۷/۴; ۸۰/۸-۹۲/۱)	۱۵/۱	-	-	۱	۵۶/۲	٪۱۵	کلبسیلا
۴۹(۱۲/۹; ۹/۸-۱۶/۸)	-	۱۳	-	-	-	-	ایمی پنم
۲۱ (۱۹/۶; ۱۲/۸-۲۸/۷)	-	-	۲۰<	۳۰/۸	۱۶/۱	-	پseudomonas
۴ (۸/۵; ۲/۸-۲۱/۳)	۳/۴	-	-	۰	۸/۴	-	E-coli
۳ (۱۷/۳; ۹/۹-۲۸/۲)	۲۰/۵	-	۱۰<	۵	۳۳/۴	-	آسیتوباکتر
۱۱ (۷/۳; ۳/۹-۱۳)	۴/۷	-	-	۰	۱۱	-	کلبسیلا
۲۴۸(۶۵/۳; ۶۰/۲۱-۷۰)	-	۲۱	-	-	۲۹	-	سیپروفلوکساسین
۶۰ (۵۶/۱; ۴۶/۲-۶۵/۵)	-	-	۲۰-۳۰<	-	۵۰/۷	۲۰	پseudomonas
۳۶ (۷۶/۶; ۶۱/۶-۸۷/۲)	۳۳/۴	-	-	-	۴۴/۵	۳۱	E-coli
۵۶(۷۴/۷; ۶۳/۱-۸۳/۷)	۳۳/۸	-	۴۰>	-	۲۴/۵	۱۷	آسیتوباکتر
۹۶(۶۳/۶; ۵۵/۳-۷۱/۱)	۱۰/۵	-	-	-	۱۷/۸	۲۰	کلبسیلا
۱۷۱(۸۶/۴; ۸۰/۶-۹۰/۷)	-	۳۱	-	-	۶۴/۱	-	سفتریاکسون
۳۷(۷۸/۷; ۶۳/۹-۸۸/۸)	۲۶/۷	-	-	-	۲۵	۳۱	E-coli
۱۳۴(۸۸/۷; ۸۲/۳-۹۳/۱)	۹/۳	-	-	-	۵۷/۶	۵	کلبسیلا
۲۵۲(۶۶/۳; ۶۱/۲۹-۷۱/۰۱)	-	۱۰	-	-	۳۳	-	سفپیم
۶۴(۵۹/۸; ۴۹-۸۴)	-	-	۲۰<	۱۲/۶	۴۰/۸	-	پseudomonas
۳۵(۷۴/۵; ۸۵/۶۸-۵۹/۳۶)	-	-	-	۰/۷	۲۵	-	E-coli
۵۲(۶۹/۳; ۷۹/۱۹-۵۷/۴۸)	-	-	-	۷/۶	۲۸/۹	-	آسیتوباکتر
۱۰۱ (۶۶/۹; ۷۴/۲-۵۸/۷)	-	-	-	۰/۲	۳۷	-	کلبسیلا

اشرشیاکولی ۲۱/۳٪ بوده است. همانگونه که در جدول ۳ بعضی از مطالعات دیگر نمایش داده شده است<sup>۱۰،۱۹،۲۰،۲۱،۲۶</sup> در مقایسه با مطالعه ما مقاومت به تمام آنتی‌بیوتیک‌های مورد مطالعه در سایر مطالعات کمتر بوده است. همانگونه که ملاحظه می‌شود گرچه شیوع مقاومت در مطالعات مختلف متفاوت است اما در مطالعه ما مقاومت در سفالوسپورین‌ها از شیوع بالاتری برخوردار است. در یک مطالعه در چین حساسیت سیپروفلوکساسین برای E.coli بسیار کاهش یافته و ۲۵/۷٪ بوده است. که مشابه مطالعه ما می‌باشد.<sup>۲۱</sup> در مطالعه ما اشرشیاکولی به ایمی‌پنم مقاومت ۸/۵ درصدی داشته است در بعضی مطالعات کلبسیلا و E.coli کاملاً به ایمی‌پنم حساس بودند.<sup>۲۲،۲۳</sup> در مطالعه حاضر مقاومت به حداقل سه دارو ۶۵٪ بود که در مورد آسیتوباکتر بالاتر (۸۲/۷٪) و در کلبسیلا کمتر (۵۸/۹٪) بوده است. در مطالعه‌ای در ترکیه، مقاومت به چند آنتی‌بیوتیک در آسیتوباکتر ۴۵/۴٪ و در پseudomonas ۳۷/۷٪ بوده است.<sup>۲۳</sup> در بررسی در عربستان ۲۹٪ مقاومت به سفنازیدیم و ۳۱٪ حداقل به دو دارو و تنها شش درصد به سه دارو مقاوم بوده‌اند.<sup>۲۴</sup> میزان مقاومت به حداقل سه آنتی‌بیوتیک در آسیتوباکتر در مطالعه امریکا ۲۴/۲-۱۱/۶٪ بوده است. در آمریکا نیز حساسیت به کینولونها در سالهای اخیر کاهش پیدا کرده که به نظر می‌رسد در مقایسه با سایر آنتی‌بیوتیکها این میزان بالاتر بوده است، که شاید دلیل آن افزایش کاربرد این داروها در سالهای اخیر باشد. همچنین ممکن است گونه‌های مقاوم به کینولونها راحت‌تر از گونه‌های مقاوم به سایر آنتی‌بیوتیکها گسترش یابد.<sup>۱۹</sup> به نظر می‌آید این مشکل در کشور ما هم وجود داشته باشد. در مجموع آنچه از این تحقیق حاصل شد نشان دادن مقاومت بسیار بالا در اغلب میکروب‌ها بود. همانگونه که مشاهده می‌شود مصرف ایمی‌پنم کم بوده که با توجه به عدم مصرف سرپائی دارو در جامعه مقاومت به آن کم بوده است اما سفپیم علی‌رغم مصرف کم در بیمارستان (طبق مطالعه حاضر) به دلیل Cross-resistancy که با سایر بتالاکتام‌ها دارد و مصرف بی‌رویه سفالوسپورینها در سطح جامعه از مقاومت بالایی برخوردار بوده است. حتی سیپروفلوکساسین با توجه به کاربرد وسیع آن برای عفونت‌های گرم منفی اعم از درمانهای سرپایی از مقاومت بالایی برخوردار بوده است. علی‌رغم آنکه بهترین روش برای آنتی‌بیوگرام و تعیین حساسیت انجام روشهای کیفی مانند E-test می‌باشد اما نتیجه بررسی‌ها در این مطالعه نشان داد، که دیسک

۶۷/۴٪ بیماران مصرف حداقل یکی از آنتی‌بیوتیکهای مورد مطالعه را قبل از انجام کشت داشتند و ۶۰/۴۳٪ بیماران بیش از هفت روز آنتی‌بیوتیک مصرف کرده بودند. بیشترین آنتی‌بیوتیک مصرفی سفتریاکسون (۴۵/۲٪) و سپس سفنازیدیم (۳۶/۳٪) بوده است. در مطالعه عمان نیز بیشترین آنتی‌بیوتیک مصرفی سفتریاکسون و سفنازیدیم بوده است.<sup>۱۰</sup> بتا لاکتام‌ها از جمله پرمصرف‌ترین آنتی‌بیوتیک‌ها در تمام دنیا می‌باشند و ایجاد مقاومت به آنها در دو دهه اخیر یک بحران مهم پزشکی در کلینیک ایجاد کرده است.<sup>۱۱</sup> در کشور ما نیز متأسفانه روزانه مصرف سفالوسپورینها به خصوص سفتریاکسون به دلیل کم عارضه بودن به وفور استفاده می‌شود که با خطر افزایش مقاومت همراه می‌باشد. در مطالعه ما میزان مقاومت ارگانسیم‌های مختلف به سفتریاکسون ۷۹-۸۹٪، سفنازیدیم ۸۷-۶۲٪، سیپروفلوکساسین ۷۷-۵۶٪، سفپیم ۶۰-۷۵٪ و ایمی‌پنم ۲۰-۸/۵٪ بوده است. میزان مقاومت به ایمی‌پنم در مطالعه بلژیک ۱۳٪ و لهستان ۸٪ که مشابه ما بود،<sup>۱۲</sup> اما در مطالعه ترکیه میزان مقاومت به ایمی‌پنم بالاتر از مطالعه ما (۳۳/۴-۸/۴٪) گزارش شده بود.<sup>۳</sup> در مطالعه حاضر مقاومت به سفپیم ۶۶٪ و در مطالعه بلژیک (۱۰٪) و برزیل (۱۸/۶٪) که بسیار کمتر از مطالعه ما بود.<sup>۱۳</sup> همچنین در مطالعه ما مقاومت به سیپروفلوکساسین ۶۵٪ بود که کمتر از مطالعه اسپانیا بود که در بیشتر از ۸۰٪ موارد مقاومت به سیپروفلوکساسین و نسل سوم سفالوسپورینها گزارش شد.<sup>۵</sup> اما در مطالعه برزیل کمتر از مطالعه ما و ۲۵/۵٪ بوده است.<sup>۱۳</sup> در مطالعه ما، مقاومت به سفنازیدیم ۷۶/۸٪ بود، که بالاتر از سایر مطالعات بود.<sup>۱۴،۱۵</sup> همچنین در مطالعه حاضر، مقاومت به سفتریاکسون ۸۶/۴٪ بود، که در مقایسه با مطالعه عمان تقریباً مشابه و از بلژیک بسیار بالاتر بوده است.<sup>۱۰</sup> در مجموع در مطالعه ما ایمی‌پنم کمترین مقاومت و سفتریاکسون بالاترین مقاومت را نشان داد. در سایر مطالعات دیگر نیز حساسیت در سفالوسپورینها و سیپروفلوکساسین بیشتر از مطالعه ما و بالای ۸۰٪ بوده است.<sup>۱۶-۱۸</sup> در مطالعه ما، حساسیت pseudomonas به ایمی‌پنم از بقیه کمتر (۷۴/۸٪) و E.coli بالاترین حساسیت (۹۱/۵٪) را داشته است. سفپیم بیشترین فعالیت را بر pseudomonas (۳۶/۴٪) و کمترین را بر آسیتوباکتر (۱۷/۳٪) و سیپروفلوکساسین بیشترین فعالیت را بر pseudomonas (۳۹/۳٪) و کمترین را بر E.coli (۱۷٪) نشان داده است. همچنین حساسیت به سفتریاکسون در کلبسیلا ۶/۶٪ و

**نتیجه‌گیری:** با توجه به افزایش مقاومت میکروبی در بیمارستانها لازم است کمیته‌های تجویز منطقی دارو در بیمارستانها در کنار کمیته‌های کنترل عفونت همکاری نزدیک داشته باشند. همچنین برای درمان به موقع بیماران با مناسب‌ترین آنتی‌بیوتیک‌های ممکن لازم است تا یک نظام مراقبت (Surveillance system) برای ثبت و گزارش‌دهی مقاومت‌های میکروبی بدست آمده از نمونه‌های آزمایشگاه در بیمارستان‌ها راه‌اندازی شود که به طور مستمر شیوع میکروارگانسیم‌ها و الگوی مقاومت آن‌ها را در اختیار بخش‌ها و بخصوص کمیته کنترل عفونت قرار دهد تا برای تصمیم‌گیری مدیریتی نیز به کار گرفته شود.

**سپاسگزاری:** این مطالعه با گرانت معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات درمانی تهران انجام شده است که از همکاری آنان کمال تشکر را داریم، همچنین از پرسنل بخش مراقبت ویژه سر کار خانم معلمی، خانم صاحب جمع، خانم کارگر و پرسنل آزمایشگاه جناب آقای ابراهیمیان و آقای ذوالفقاری و همچنین سرکار خانم دکتر پروین تاجیک برای انجام مشاوره آماری و پرسنل مرکز توسعه پژوهش بیمارستان سینا نهایت تشکر و قدردانی را می‌نمائیم.

## References

- Eggimann P, Pittet D. Infection control in the ICU. *Chest* 2001; 120: 2059-93.
- Gunseren F, Mamikoglu L, Ozturk S, Yucesoy M, Biberoglu K, Yulug N, et al. A surveillance study of antimicrobial resistance of gram-negative bacteria isolated from intensive care units in eight hospitals in Turkey. *J Antimicrob Chemother* 1999; 43: 373-8.
- Kucukates E. Antimicrobial resistance among Gram-negative bacteria isolated from intensive care units in a Cardiology Institute in Istanbul, Turkey. *Jpn J Infect Dis* 2005; 58: 228-31.
- Leblebicioglu H, Gunaydin M, Esen S, Tuncer I, Findik D, Ural O, et al. Surveillance of antimicrobial resistance in gram-negative isolates from intensive care units in Turkey: analysis of data from the last 5 years. *J Chemother* 2002; 14: 140-6.
- Rodríguez CH, Juárez J, de Mier C, Pugliese L, Blanco G, Vay C. Bacterial resistance to antibiotics in gram-negative rods isolated from intensive care units. Comparative analysis between two periods (1998, 2001). *Medicina (B Aires)* 2003; 63: 21-7.
- Glupczynski Y, Delmee M, Goossens H, Struelens M; Belgian Multicenter ICU Study Group. Distribution and prevalence of antimicrobial resistance among gram-negative isolates in intensive care units (ICU) in Belgian hospitals between 1996 and 1999. *Acta Clin Belg* 2001; 56: 297-306.
- Gaynes PR, Horan TC. Surveillance of nosocomial infections. Mayhall C, Editors. Hospital epidemiology and infection control. 2nd ed. Philadelphia: lippincott williams and wilkins: 1999; p. 1297-307.
- National Committee for Clinical Laboratory Standard. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Wayne, PA: 2002.
- Orrett FA. Nosocomial infections in an intensive care unit in a private hospital. *West Indian Med J* 2002; 51: 21-4.
- Al-Lawati AM, Crouch ND, Elhag KM. Antibiotic consumption and development of resistance among gram-negative bacilli in intensive care units in Oman. *Ann Saudi Med* 2000; 20: 324-7.
- Jean SS, Teng LJ, Hsueh PR, Ho SW, Luh KT. Antimicrobial susceptibilities among clinical isolates of extended-spectrum cephalosporin-resistant Gram-negative bacteria in a Taiwanese University Hospital. *J Antimicrob Chemother* 2002; 49: 69-76.
- Patzer J, Dzierzanowska D, Turner P. Susceptibility patterns of Gram-negative bacteria from a Polish intensive care unit, 1997-2000. *Int J Antimicrob Agents* 2002; 19: 431-4.
- Mendes C, Oplustil C, Sakagami E, Turner P, Kiffer C; MYSTIC Brazil Group. Antimicrobial susceptibility in intensive care units: MYSTIC Program Brazil 2002. *Braz J Infect Dis* 2005; 9: 44-51.
- Ishii Y, Alba J, Kimura S, Shiroto K, Yamaguchi K. Evaluation of antimicrobial activity of beta-lactam antibiotics using Etest against clinical isolates from 60 medical centres in Japan. *Int J Antimicrob Agents* 2005; 25: 296-301.
- Orrett FA. Resistance patterns among selective Gram-negative bacilli from an intensive care unit in Trinidad, West Indies. *Saudi Med J* 2004; 25: 478-83.
- Rhomberg PR, Fritsche TR, Sader HS, Jones RN. Comparative antimicrobial potency of meropenem tested against Gram-negative



- bacilli: report from the MYSTIC surveillance program in the United States(2004). *J Chemother* 2005; 17: 459-69.
17. Turner PJ. Trends in antimicrobial susceptibilities among bacterial pathogens isolated from patients hospitalized in European medical centers: 6-year report of the MYSTIC Surveillance Study (1997-2002). *Diagn Microbiol Infect Dis* 2005; 51: 281-9.
  18. Eltahawy AT, Khalaf RM. Antibiotic resistance among Gram-negative non-fermentative bacteria at a teaching hospital in Saudi Arabia. *J Chemother* 2001; 13: 260-4.
  19. Karlowsky JA, Draghi DC, Jones ME, Thornsberry C, Friedland IR, Sahn DF. Surveillance for antimicrobial susceptibility among clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* from hospitalized patients in the United States, 1998 to 2001. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47: 1681-8.
  20. Gonlugur U, Bakici MZ, Akkurt I, Efeoglu T. Antibiotic susceptibility patterns among respiratory isolates of Gram-negative bacilli in a Turkish university hospital. *BMC Microbiol* 2004; 4: 32.
  21. Wang H, Chen M; China Nosocomial Pathogens Resistance Surveillance Study Group. Surveillance for antimicrobial resistance among clinical isolates of gram-negative bacteria from intensive care unit patients in China, 1996 to 2002. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2005; 51: 201-8.
  22. Stratchounski LS, Kretchikova OI, Kozlov RS, Reshedko GK, Stetsiouk OU, Tarasova GD, et al. Antimicrobial resistance of *Streptococcus pneumoniae* isolated from healthy children in day-care centers: results of a multicenter study in Russia. *Pediatr Infect Dis J* 2000; 19: 196-200.
  23. Yaman A, Tasova Y, Kibar F, Inal AS, Saltoglu N, Buyukcelik O, et al. Investigation of the antibiotic susceptibility patterns of pathogens causing nosocomial infections. *Saudi Med J* 2004; 25: 1403-9.
  24. Eltahawy AT. Gram-negative bacilli isolated from patients in intensive care unit: prevalence and antibiotic susceptibility. *J Chemother* 1997; 9: 403-10.

## Antimicrobial resistance patterns among Gram-negative bacilli isolated from patients with nosocomial infections by E-test versus Disk diffusion test

Hadadi A<sup>\*1</sup>

Rasoulinejad M<sup>1</sup>

Maleki Z<sup>2</sup>

Mojtahedzadeh M<sup>3</sup>

Younesian M<sup>4</sup>

Ahmadi S.A<sup>2</sup>

Bagherian H<sup>5</sup>

1-Department of Infectious Diseases

2- Department of Pathology

3- Department. of Clinical

Pharmacology

4- Department of Epidemiology

5- Researcher

### Abstract

**Background:** The object of this study was to investigate the antimicrobial resistance pattern among common nosocomial Gram-negative bacilli isolated from patients with nosocomial infections.

**Methods:** From June 2004 to December 2005, 380 isolates of common Gram-negative bacilli (*Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter* and *E. coli*) from 270 patients with nosocomial infections in Sina and Imam Hospitals, Tehran, Iran, were evaluated for susceptibility to Imipenem, Cefepime, Ciprofloxacin, Ceftriaxone and Ceftazidime by Disc diffusion and E-test methods.

**Results:** The most frequent pathogens isolated were *Klebsiella* spp. (40%), followed by *Pseudomonas* (28%), *Acinetobacter* spp. (20%) and *E. coli* (12%). The most active antibiotic was imipenem (84%). 26% of all isolates were sensitive to Cefepime, 26% to Ciprofloxacin, 20% to Ceftazidime and 10% to Ceftriaxone. The susceptibility rates of *Klebsiella* to Imipenem, cefepime, ciprofloxacin, Ceftazidime and Ceftriaxone were 91, 25, 21, 13 and 7 percent, respectively and 91, 19, 17, 21 and 21 percent, respectively, for *E. coli*. Among *Acinetobacter* spp., the susceptibility rate was 77% for Imipenem and 21% for Ciprofloxacin. Among *Pseudomonas* spp., 75% of isolates were susceptible to Imipenem and 39% to Ciprofloxacin. The comparison of the resistance status of microorganisms by both Disc diffusion and E-test methods showed a clinically noticeable agreement between these two tests.

**Conclusions:** Since antibiotic resistance among Gram-negative bacilli has increased, enforcement of policy regarding proper antibiotic use is urgently needed in order to delay the development of resistance. Although it is widely accepted that E-test is more accurate in determining the resistance of microorganisms, our study showed that the Disc diffusion test will give the same results in most occasions and is therefore still considered useful in clinical practice.

**Keywords:** Nosocomial infection, antimicrobial resistance, gram-negative bacilli, E-test, Disk diffusion

\*Corresponding author Imam  
Khomeini Ave., Hassan abad Sq.,  
Sina Hospital.  
Tel: +98-21-66716546  
email: hadadi@tums.ac.ir