مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
دوره بیست و نهم، شماره سه، خرداد ۱۴۰۰
تاریخ دریافت:۱۳۹۸/۰۵/۰۸
تاریخ پذیرش:۱۳۹۸/۰۵/۱۹

فراوانی ژن‌های *fimH*، *papC* و *aer* در ایزوله‌های اشرشیاکلی جدا شده از بیماران مبتلا به عفونت ادراری یزد و بررسی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی آن‌ها

زهرا عبداله‌زاده[۱]، اکرم آستانی[۲]، احمد مصدق*[۳]، سعیده‌السادات حسینی محمدآبادی[۴]، محمود وکیلی[۵]

مقاله پژوهشی

مقدمه: اشریشیاکلی از عوامل اصلی ایجاد کننده عفونت ادراری می‌باشد. این باکتری برای ایجاد عفونت در دستگاه ادراری به چندین ویرولانس فاکتور ازجمله ادهزین، توکسین‌ها و فیمبریه احتیاج دارد. در مطالعه حاضر، فراوانی چندین ویرولانس فاکتور انتخابی *fimH*، *papC*، *aer* را در ایزوله‌های اشریشیاکلی جدا شده از ادرار بیماران مبتلا به عفونت ادراری یزد بررسی کردیم.

روش بررسی: در این مطالعه توصیفی- مقطعی طی سال ۹۵-۹۴، ۱۴۶ ایزوله اشریشیاکلی جدا شده از ادرار بیماران مبتلا به عفونت ادراری یزد جمع‌آوری و به وسیله روش‌های فنوتیپی و ژنوتیپی تایید هویت گردید. فراوانی ژن‌های *fimH*، *papC*، *aer* را با استفاده از پرایمرهای اختصاصی به‌روش PCR بررسی و الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌ها را به روش دیسک دیفیوژن تعیین کردیم.

نتایج: در مطالعه حاضر، فراوانی ژن‌های ویرولانس انتخابی *fimH* (۸۷٪)، *aer* (۸۵/۶٪)، *papC* (۹/۶٪) بود. از بین ۱۴۶ ایزوله *اشریشیاکلی*، (۵۷/۲٪) ایزوله‌ها به کوتریماکسازول، ۵۴/۸٪ به نالیدیکسیک اسید، ۴۵/۹٪ به سفازولین، ۴۰/۴٪ به سفکسیم، ۴۲/۵٪ به سفالوتین، ۴۱/۸٪ به سفالکسین، ۳۱/۵٪ به نوروفلوکساسین، ۳۰/۱٪ به آفلوکساسین، ۲۸/۳٪ به سیپروفلوکساسین، ۲۴٪ به جنتامایسین، ۱۹/۹٪ به آمیکاسین، ۱/۴٪ به نیتروفورانتوئین، ۱/۴٪ به فسفومایسین مقاوم بودند. بیشترین مقاومت به کوتریماکسازول وکمترین مقاومت به نیتروفورانتوئین و فسفومایسین مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: در این مطالعه درصد فراوانی ژن *fimH* بالاتر از ژن‌های دیگر مورد مطالعه بود. هم‌چنین بر اساس الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی، نیتروفورانتوئین و فسفومایسین داروهای مناسبی جهت درمان بیماران در منطقه ما می‌باشند.

واژه‌های کلیدی: اشریشیاکلی، فاکتور های ویرولانس، *papC*، *aer*، *fimH*، مقاومت آنتی‌بیوتیکی

ارجاع: عبداله‌زاده زهرا، آستانی اکرم، مصدق احمد، حسینی محمدآبادی سعیده‌السادات، وکیلی محمود. **فراوانی ژن‌های *fimH*، *papC* و *aer* در ایزوله‌های اشرشیاکلی جدا شده از بیماران مبتلا به عفونت ادراری یزد و بررسی‌الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی آن‌ها.** مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد ۱۴۰۰؛ ۲۹(۳): ۶۵-۳۵۵۶.

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران.
۲،۳- گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران.
۴- کارشناسی ارشد میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران.
۵- مرکز تحقیقات پایش سلامت، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران.
*(نویسنده مسئول)؛ تلفن:۰۹۱۳۱۵۲۷۴۹۵، پست الکترونیکی: Mosadegh14@yahoo.com، صندوق پستی :۸۹۱۵۱۷۳۱۴۹

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

[DOI: 10.18502/ssu.v29i3.6200]

مقدمه

عفونت مجاری ادراری (UTI: UrinaryTractInfection) از شایع‌ترین بیماری‌های عفونی خارج روده‌ای انسان است که در همه سنین اتفاق می‌افتد (۲،۱) و براساس جایگاه عفونت به سه دسته تقسیم می‌شوند: سیستیت، پیلونفریت، باکتری وری (۳). براساس مطالعات قبلی شیوع سالانه عفونت ادراری حدود ۱۵۰ تا ۲۵۰ میلیون مورد در جهان می‌باشد (۴-۶). هشتاد تا نود درصد موارد عفونت ادراری توسط اشریشیاکلی اتفاق می‌افتد (۷). سروتیپ‌هایی از اشریشیاکلی که با عفونت ادراری مرتبط هستند تحت عنوان اشرشیاکلی یوروپاتوژن (UPEC:Uropathogenic Escherichia coli) شناخته می‌شوند (۸). ایزوله‌های UPEC به منظور پایداری در مجرای ادراری و ایجاد بیماری دارای چندین فاکتورهای ویرولانس ضروری می‌باشند (۴،۳). این فاکتورهای ویرولانس که به‌طور بالقوه باعث انتشار عفونت می‌شوند، به دو گروه تقسیم می‌شوند؛ فاکتورهای ویرولانس سطحی که باعث اتصال باکتری به بافت میزبان می‌شوند و فاکتورهای ویرولانس ترشحی که به سمت محل عفونت می‌روند (۳،۹). از نخستین ویرولانس فاکتورهای سطحی که باعث انتشار عفونت می‌شوند می‌توان به ادهزین‌ها اشاره کرد که علاوه بر نقش چسبندگی، با تشکیل بیوفیلم و انتقال سیگنال‌هایی به سلول‌های اپی‌تلیال، باعث التهاب می‌شوند (۹). فیمبریه تیپ یک و فیمبریه P از معمول‌ترین و شایع‌ترین فیمبریه ایزوله‌های UPEC هستند که باعث افزایش ویرولانس باکتری و مشارکت در کلونیزاسیون اولیه در مجرا می‌شوند (۱۰،۹). فیمبریه تیپ یک به وسیله ژن *fim H* کد می‌شود. *fim H* واسطه اتصال باکتری به رسپتورهای گلیکوپروتیینی حاوی مانوز می‌باشد که بر سطح لومینال سلول‌های اپی تلیال مثانه قرار دارد (۳،۱۰). فیمبریه P به وسیله ژن (*pap* : Pyelonephritis associated pili) کد می‌شود که برای عفونت قسمت فوقانی مجاری ادراری ضروری است و با القا سیگنال‌های التهابی باعث پیلونفریت حاد می‌شود (۱۱). ژن *papC* غشای خارجی پروتئین آشر را رمزدهی می‌کند که برای گردهمایی فیمبریه P مورد نیاز می‌باشد. تخمین زده شده است هشتاد درصد ایزوله‌های UPEC مرتبط با بیماران پیلونفریت، فیمبریهP دارند (۹). آئروباکتین سیدروفور باکتریایی است که توسط ژن *aer* کد می‌شود و در ایزوله‌های مرتبط با پیلونفریت و سیستیت یافت شده است. این سیدروفور تجزیه کننده آهن بوده و سیستم انتقالی است که اشریشیاکلی به واسطه آن قادر به رشد در محیط فقیر از آهن، مثل ادرار رقیق می‌باشد. در طی چندین دهه گذشته، فراوانی عفونت‌های ادراری مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها در سراسر دنیا افزایش یافته است. افزایش مقاومت ضدمیکروبی به طور آشکاری باعث کاهش اثرات درمانی و افزایش هزینه‌های درمانی و مرگ و میر می‌شود (۱۲). باتوجه به شیوع عفونت ادراری در جامعه، ضرورت انجام غربالگری، تشخیص ودرمان به موقع بیماران از اهمیت بالایی برخوردار می‌باشد. به دلیل اینکه با سهل‌انگاری دردرمان این عفونت، مشکلات جبران‌ناپذیری در آینده برای بیمار رخ خواهد داد، بنابراین تحقیق حاضر با هدف بررسی میزان فراوانی ژن‌های ویرولانس *papC*، *fimH* و *aer* در ایزوله‌های UPEC جدا شده از ادرار بیماران مبتلا به عفونت ادراری یزد و تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی آن‌ها به داروهای ضدمیکروبی بر اساس CLSI صورت پذیرفته است. آگاهی بهتر از مقاومت آنتی‌بیوتیکی آن‌ها به‌پزشک این امکان را می‌دهد که روند پیشرفت عفونت در میزبان و درمان مناسب آن را پیش‌بینی کند. هم‌چنین محققین با آگاهی از شیوع ژن‌های ویرولانس می‌توانند کاندید مناسب واکسن را شناسایی کنند.

روش بررسی

در این مطالعه توصیفی-مقطعی، در مجموع ۱۴۶ ایزوله *اشریشیاکلی* از نمونه‌های ادرار بیماران مراجعه‌کننده به بیمارستان‌های شهیدصدوقی و شهدای کارگر یزد طی سال ۱۳۹۴ تا ۱۳۹۵جمع‌آوری شد. باکتری‌ها در محیط TSB/ گلیسرول در۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. این نمونه‌ها برروی EMB (Merck آلمان) کشت داده شدند و به مدت ۲۴

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

[DOI: 10.18502/ssu.v29i3.6200]

ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. پرگنه‌های لاکتوز مثبت با استفاده از محیط‌های افتراقی (Merck آلمان) TSI، SIM، سیمون سیترات، اوره آگار و MR-VP تعیین هویت شدند. جهت تایید مولکولی ایزوله‌ها ازتکثیر ژن 16SRrna استفاده شد که در بخش مولکولی به آن اشاره می‌گردد. برای تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌ها از روش دیسک دیفیوژن بر اساس پروتکل (Clinical CLSI 2015 and Laboratory Standards Institute) استفاده شد (۱۳). در این روش از محیط مولر هینتون آگار (Merck آلمان) و سوسپانسیون باکتریایی معادل کدورت نیم مک فارلند ودیسک‌های کوتریموکسازول، سفازولین، جنتامیسین، آمیکاسین، نیتروفورانتوئین، نوروفلوکساسین، آفلوکساسین، سفکسیم، سفالکسین، سفالوتین (پادتن طب، ایران)، سیپروفلوکساسین، نالیدیکسیک اسید، فسفومایسین (MAST، انگلستان) استفاده شد. از سویه استاندارد اشریشیاکلی ATCC 25922 جهت کنترل استفاده شد. جهت استخراج DNA از روش Salting Out استفاده شد (۱۴). کیفیت DNA استخراج شده به وسیله ژل آگارز الکتروفورز (ژل آگارز۰/۷٪) (پدیده نوژن پارس، ایران) بررسی و غلظت DNA استخراج شده به وسیله نسبت A260/A280 با استفاده از اسپکتروفتومتر (BioTekinstruments، آمریکا) اندازه‌گیری شد. غلظت نهایی برای هریک از مواد در واکنش PCR برای ژن 16S rRNA عبارت بود از: ۵ µl آب مقطر تزریقی استریل، ۱µ l از هر کدام از پرایمرهای UNI_OL -F و UNI_OL -R با غلظت ۴پیکومول، ۱۰µl از مستر میکس (Amplicon، دانمارک) و ۳µl از DNA استخراج شده از پرایمرهای یونیورسال 5’-GTGTAGCGGTGAAATGCG-3’و UNI_OL-F ACGGGCGGTGTGTACAA-3’) UNI_OL–R 5’- ۷۰۹bp) جهت تکثیر ژن 16S rRNA استفاده شد (۱۵). از روش PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی برای شناسایی ژن‌های ویرولانس *papC*، *fim H*، *aer* استفاده شد (جدول ۱). واکنش PCR برای هرکدام از ژن‌ها در حجم ۲۰ میکرولیتر انجام شد. حجم مواد لازم برای واکنش PCR تمامی ژن‌ها به صورت زیر می‌باشد: ۱۰µl مسترمیکس (Amplicon، دانمارک)، ۵µl آب مقطر استریل، ۱/۲۵µl از هرکدام از پرایمرهای Forward و Reverse با غلظت ۴ پیکومول، ۲/۵µl DNA استخراج شده. تکثیر ژن 16SrRNA در دستگاه ترموسایکلر (Quantabiotech، انگلستان) شامل واسرشت اولیه در دمای ۹۴°C به مدت ۵ دقیقه و به‌دنبال آن ۲۰ چرخه شامل واسرشتگی در دمای ۹۴°C، اتصال در دمای ۵۳°C و گسترش در دمای ۷۲°C به مدت ۳۰ ثانیه برای هر مرحله و یک مرحله ۵ دقیقه‌ای به عنوان گسترش نهایی در ۷۲°C بود. تکثیر ژن‌های *papC*، *fim H*،*aer* با استفاده از دستگاه ترموسیکلر (Quantabiotech، انگلستان) و به صورت زیر انجام شد: واسرشت اولیه به مدت ۵ دقیقه در ۹۴°C، ۳۰ سیکل حرارتی شامل واسرشتگی در ۹۴°C به مدت ۳۰ ثانیه، دمای اتصال پرایمر در ۶۱°C به مدت ۳۰ ثانیه برای ژن *fim H*، ۶۰/۵°C برای ژن *papC* به مدت ۳۰ ثانیه و ۵۷°C برای ژن*aer* به مدت ۳۰ ثانیه. دمای گسترش ۷۲°C به مدت ۳۰ ثانیه و یک مرحله نهایی ۵ دقیقه‌ای در ۷۲°C به عنوان گسترش نهایی. قطعات ژن تکثیر شده با این تکنیک به وسیله الکتروفورز با استفاده از ژل ۱٪ در کنار Ladder 50bp و با استفاده از DNA Green viewer نمایان (تصویر۱، ۲ ،۳) و برای تایید قطعات تکثیر شده از نظر وجود ژن‌های مورد نظر، از ژن‌های تکثیر یافته نمونه‌هایی جهت تعیین توالی ارسال شد.

تجزیه و تحلیل آماری

بررسی داده‌ها با استفاده از SPSS version 16 و با استفاده از آزمون آماری Chi-square انجام شد.

ملاحظات اخلاقی

در مطالعه حاضر تمامی موارد مربوط به اصول اخلاق پزشکی رعایت شده است. (کد اخلاق پزشکی IR.SSU.MEDICINE.REC1396.99).

نتایج

۱۴۶ نمونه جمع‌آوری شده با روش مولکولی با استفاده ازروش PCR و ژن 16SrRNA تایید شد (شکل۴). در این بررسی ۱۷/۸٪ ایزوله‌ها از افراد مذکر و ۸۲/۲٪ ایزوله‌ها از افراد مونث به دست آمد. ۴۳/۲٪ ایزوله‌ها از مراجعه‌کنندگان سرپایی و ۵۶/۸٪، مربوط به افراد بستری بود. از بین افراد

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

[DOI: 10.18502/ssu.v29i3.6200]

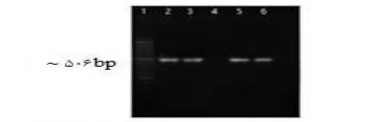
بستری در بیمارستان، به ترتیب بیشترین (۲۲/۶٪) و کمترین (۰/۷٪) ایزوله‌ها از بخش‌های داخلی و NICU بود. در این بررسی بیشترین مقاومت نسبت به کوتریماکسازول و کمترین مقاومت نسبت به نیتروفورانتوئین و فسفومایسین وجود داشت (جدول ۲).

جدول ۱: مشخصات پرایمرهای اختصاصی جهت شناسایی ژن‌های ویرولانس اشریشیاکلی

ژن ها	توالی پرایمر(´۵-´۳)	اندازه محصول(bp)	منبع
fimH	F: TGC AGA ACG GAT AAG CCG TGG R: GCA GTC ACC TGC CCT CCG GTA	۵۰۶	(۱۶)
papC	F: GTG GCA GTA TGAGTA ATG ACC GTT A R:ATA TCC TTT CTG CAG GGA TGC AAT A	۲۰۳	(۱۶)
aer	F: AAACCTGGCTTACGCAACTGT R: ACCCGTCTGCAAATCATGGAT	۲۶۹	(۱۷)

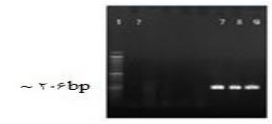
جدول ۲: الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های اشریشیاکلی (n=146)

آنتی‌بیوتیک	مقاوم(٪) تعداد	نیمه حساس(٪) تعداد	حساس(٪) تعداد
فسفومایسین (۲µg)	۲ (۱/۴)	۱ (۰/۷)	۱۴۳ (۹۷/۹)
سفازولین (۳۰µg)	۶۷ (۴۵/۹)	۵(۳/۴)	۷۴ (۵۰/۷)
جنتامیسین (۱۰µg)	۳۵ (۲۴)	۱ (۰/۷)	۱۱۰(۷۵/۳)
آمیکاسین (۳۰µg)	۲۹ (۱۹/۹)	۱۷ (۱۱/۶)	۱۰۰ (۶۸/۵)
نیتروفورانتوئین (۳۰۰µg)	۲ (۱/۴)	۰	۱۴۴ (۹۸/۶)
نوروفلوکساسین (۱۰µg)	۴۶ (۳۱/۵)	۳ (۲)	۹۷ (۶۶/۴)
آفلوکساسین (۵µg)	۴۴ (۳۰/۱)	۱ (۰/۷)	۱۰۱ (۶۹/۲)
سفکسیم (۵µg)	۵۹ (۴۰/۴)	۳ (۲/۱)	۸۴ (۵۷/۵)
سفالکسین (۳۰µg)	۶۱ (۴۱/۸)	۸ (۵/۵)	۷۷ (۵۲/۷)
سفالوتین (۳۰µg)	۶۲ (۴۲/۵)	۵ (۳/۴)	۷۹ (۵۴/۱)
سیپروفلوکساسین (۵µg)	۴۱(۲۸/۳)	۰	۱۰۵(۷۱/۷)
نالیدیکسیک اسید (۳۰µg)	۸۰(۵۴/۸)	۲(۱/۴)	۶۴(۴۳/۸)
کوتریماکسازول (۱/۲۵µgتری‌متوپریم و ۲۳/۷۵µg سولفامتوکسازول)	۸۳ (۵۷/۲)	۱(۰/۷)	۶۲(۴۲/۱)

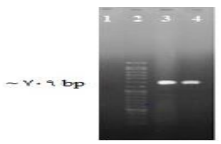


شکل ۱ : واکنش PCR ژن *fimH* (۵۰۶ bp)
شماره ۱ : Ladder۵۰bp ، شماره ۲،۳،۵،۶ نمونه مثبت، شماره ۴ : کنترل منفی

شکل ۲ : واکنش PCR ژن *aer* (۲۶۹ bp)
شماره ۱ : Ladder۵۰bp ، شماره ۲،۳،۴ نمونه مثبت
شماره ۵ : کنترل منفی



شکل ۳ : واکنش PCR ژن *papC* (۲۰۳ bp)
شماره ۱ : Ladder۵۰bp ، شماره ۷،۸،۹ نمونه مثبت ، شماره ۲ : کنترل منفی



شکل ۴ : محصول PCR ژن 16S rRNA (۷۰۹ bp)
شماره ۱:کنترل منفی ، شماره ۲ : DNA Ladder ۵۰bp
شماره ۳ و ۴ : نمونه های 16S rRNA

درصد فراوانی ژن‌های مورد بررسی در مطالعه حاضر به ترتیب (۸۷٪) *fimH*، (۸۵/۶٪)*aer* و (۲۶٪)*papC* بود (شکل ۱،۲،۳).

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

[DOI: 10.18502/ssu.v29i3.6200]

بحث

عفونت ادراری در بین عفونت‌های کسب شده از جامعه و بیمارستانی اهمیت ویژه‌ای دارد. اشریشیاکلی عامل UTI و یکی از مهم‌ترین عوامل عفونت‌های باکتریال می‌باشد (۴). عفونت ادراری ایجاد شده به وسیله ایزوله‌های اشریشیاکلی یوروپاتوژن از شایع‌ترین عوامل ایجادکننده نارسایی کلیه می‌باشد و به نظر می‌رسد که پتانسیل بیماری‌زایی ایزوله‌های اشرشیاکلی به حضور فاکتورهای ویرولانس وابسته می‌باشد یافتن ارتباط بین فاکتورهای ویرولانس ایزوله‌های اشریشیاکلی و نوع عفونت در درمان عفونت ادراری اثر می‌گذارد. ادهزین‌ها، توکسین‌ها و فاکتورهای شلاته کننده آهن (سیدروفور) به عنوان اصلی‌ترین فاکتورهای ویرولانس اشریشیاکلی شناخته شده‌اند (۱۸). در مطالعه حاضر ۱۴۶ ایزوله اشریشیاکلی عامل عفونت ادراری طی سال ۱۳۹۴ تا ۱۳۹۵ از بیمارستان شهیدصدوقی و شهدای کارگر شهر یزد جمع‌آوری شد و بعد از تایید به روش مولکولی با استفاده از 16S rRNA، حضور ژن‌های ویرولانس *papC*، *fim H*، *aer* با استفاده از روش PCR بررسی شد. درصد فراوانی ژن‌های مورد بررسی در مطالعه حاضر به ترتیب *fimH* (۸۷٪)، *aer* (۸۵/۶٪) و *papC* (۲۶٪) بود. درمان با آنتی‌بیوتیک اولین و مهم‌ترین اقدام به منظور کنترل عامل مهاجم می‌باشد. مصرف بیش از اندازه و ناآگاهانه داروهای ضدمیکروبی باعث نارسایی در درمان و نگرانی‌های پیرامون آن می‌شود (۱۹). بدین منظور الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌ها براساس جدول CLSI2015 مورد بررسی قرار گرفت (جدول ۲). چندین مطالعه ارتباط بین مقاومت آنتی‌بیوتیکی و ویرولانس فاکتورها را در ایزوله‌های UPEC گزارش کرده‌اند. حضور ژن های ویرولانس معین ممکن است به مکانیسم عمل آنتی‌بیوتیک‌ها یا واکنش‌های ناشناخته بین فاکتورهای ویرولانس و آنتی‌بیوتیک‌ها مربوط باشد (۲۰). در مطالعه حاضر ارتباط آماری معنی‌داری بین ژن‌های ویرولانس مورد بررسی و مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های UPEC یافت نشد (P>۰/۰۵). در مطالعه حاضر *fimH* (۸۷٪)، بیشترین فراوانی را داشت. بالا بودن درصد ژن *fim H* در این مطالعه احتمالاً به بیماری‌زایی ایزوله‌ها مربوط است، زیرا چسبندگی و اتصال باکتری به سطوح اورواپیتلیال مهم‌ترین عامل جهت آغاز بیماری‌زایی است. *fim H* در ایزوله‌های UPEC به شدت حفظ شده است که تعیین کننده نقش آن در کلونیزاسیون باکتری در مجاری ادراری است و با مطالعات دیگر هم‌خوانی دارد (۱۸). در مطالعه نعمتی و همکاران در سال ۲۰۱۳ تا ۲۰۱۲ در کاشان از بین ۱۵۰ ایزوله اشریشیاکلی جدا شده از عفونت ادراری بیمارستان شهید بهشتی کاشان شیوع ژن‌های *aer*(۳۰/۶٪) و *papC* (۱۶/۶٪) گزارش شده است (۱۲). در مطالعه‌ای دیگر که به وسیله تیبا و همکاران در سال ۲۰۰۸ در برزیل انجام شد، از بین ۱۶۲ ایزوله اشرشیاکلی جدا شده از بیماران مبتلا به عفونت ادراری شیوع ژن‌های *fimH* (۹۷/۵٪) و *papC* (۳۲/۷٪) گزارش شده است (۱) که نزدیک به نتایج مطالعه حاضر می‌باشد و بالا بودن درصد *fimH* نشان‌دهنده این است که فیمبریه نوع یک، یک ویرولانس فاکتور مهم است و چسبندگی به واسطه آن نقش مهمی در آغاز التهاب دارد که باعث افزایش ویرولانس اشریشیاکلی در مجرای ادراری می‌شود. در مطالعه اسدی و همکاران، ۲۰۱۱ تا۲۰۱۰، در بیمارستان پیمانیه جهرم از بین ۶۰ ایزوله *اشرشیاکلی* جدا شده از عفونت ادراری، فراوانی ژن‌های *fim H* (۵۶/۷٪) و *papC*(۵۳/۳٪) گزارش شده است. هم‌چنین ۴۵٪ ایزوله‌ها به کوتریماکسازول، ۴۱/۷٪ به نالیدیکسیک‌اسید، ۲۱/۷٪ به سیپروفلوکساسین،۲۰٪ به سفکسیم، ۱۶/۷٪ به سفالکسین، ۱۳/۳٪ به آمیکاسین، ۱۱/۷٪ به جنتامیسین و ۳/۳٪ به نیتروفورانتوئین مقاوم بودند، (۴) که با نتایج الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی مطالعه حاضر مغایرت دارد که این تفاوت می‌تواند به دلیل تفاوت مناطق جغرافیایی باشد. در مطالعه SANTO و همکاران در سال۲۰۰۰ در کشور برزیل فراوانی ژن‌های *papC* (۱۱٪) و *aer* (۷۶٪) گزارش شده است (۱۱) که به مطالعه حاضر نزدیک می‌باشد. آئروباکتین (عامل شلاته کننده آهن)، باعث کلونیزاسیون باکتری در محیط‌های

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

[DOI: 10.18502/ssu.v29i3.6200]

فقیر از آهن مثل ادرار رقیق می‌شود اپرون ژن *aer* در شرایط فقر آهن فعال می‌شود تا باکتری بتواند در این شرایط زنده بماند در واقع آئروباکتین باعث ترشح Fe^{+3} از سلول میزبان می‌شود (۱۰) که در مطالعه حاضر فراوانی بالای این ژن نشان‌دهنده نقش مهم این ژن در کلونیزاسیون باکتری در مجاری ادراری می‌باشد و با مطالعه رئیس‌پور و همکارانش هم‌خوانی دارد (۲۱). در مطالعه Tarchouna و همکاران در ۲۰۰۹ تا ۲۰۰۸ در تونس، از بین ۹۰ ایزوله اشریشیاکلی جدا شده از بیماران با عفونت ادراری شیوع (۶۸٪) *fim H*، (۴۱٪) *papC*، (۵۲٪) *aer* گزارش شده است (۲). در مطالعه LOPEZ و همکاران در ۲۰۱۴ در مکزیک، از بین ۱۰۸ ایزوله اشریشیاکلی جدا شده از زنان مبتلا به عفونت ادراری درصد فراوانی ژن‌های (۸۶٪) *fim H* و (۶۲٪) *papC* بوده است. ۷۵/۹٪ ایزوله‌ها به آمپی‌سیلین/ سولباکتام، ۶۲/۳٪ به سیپروفلوکساسین، ۶۰/۲٪ به لووفلوکساسین، ۵۶/۱٪ به کوتریماکسازول، ۵۵/۲٪ به آمپی‌سیلین، ۵۲/۶٪ به موکسی‌فلوکساسین، ۵۱/۱٪ به پیپراسیلین، ۳۴/۱٪ به سفازولین، ۲۸/۹٪ به سفکسیم، ۲۷/۸٪ به جنتامیسین، ۲۲/۱٪ به سفتازیدیم، ۲۱/۹٪ به سفتریاکسون، ۲۱/۹٪ به سفپیم، ۲۱/۱٪ به سفوتاکسیم، ۶/۵٪ به آمیکاسین، ۰/۹٪ به سفوکسیتین، ۰/۶٪ به سفوتتان مقاوم بودند (۵). در مطالعه Hassan و همکاران در مصر از بین ۱۱۱ نمونه جمع آوری شده از بیماران مبتلا به عفونت ادراری، ۴۰ ایزوله اشریشیاکلی یافت شد که (۳۱٪) *fim H* و (۶۹٪) *pap C* گزارش شده است که با نتایج مطالعه حاضر مغایرت دارد. حضور ژن *pap* با پیلونفریت مرتبط است، بنابراین پایین بودن درصد ژن *pap* در مطالعه حاضر ممکن است بیانگر توانایی کمتر ایزوله‌ها در کلونیزاسیون کلیه و ایجاد پیلونفریت باشد. هم‌چنین در مطالعه Hassan ۱۰۰٪ ایزوله‌ها به آمیکاسین، ۶۷٪ به نیتروفورانتوئین، ۶۲٪ به جنتامیسین، ۳۲٪ به نوروفلوکساسین، ۳۲٪ به آفلوکساسین، ۲۷٪ به سیپروفلوکساسین، ۲۵٪ به کوتریماکسازول و ۵٪ به آمپی‌سیلین، حساس بودند (۱۷). در مطالعه پیمانی و همکاران طی سال ۱۳۹۳تا ۱۳۹۲ در بخش مراقبت‌های ویژه کرج و قزوین، از بین ۱۲۰ ایزوله اشریشیاکلی جدا شده از ادرار بیماران مبتلا به عفونت دستگاه ادراری (۸۸/۳٪) *fim H* و (۵۹/۲٪) *papC* گزارش شده است (۲۲). در مطالعه کریمیان و همکاران در بیمارستان بقیه‌الله تهران طی سال ۲۰۱۲ از بین ۱۲۳ ایزوله *اشریشیاکلی* جدا شده از بیماران مبتلا به عفونت ادراری (۶۹/۶۷٪) *fim H* و (۵۰/۴٪) *papC* گزارش شده است (۷). در مطالعه‌ای از رومانی طی ۲۰۰۷ تا ۲۰۰۶ از بین ۶۰ ایزوله اشریشیاکلی جدا شده از بیماران مبتلا به عفونت ادراری (۵۳/۳٪) *aer* و (۸۰٪) *fim H* گزارش شده است (۲۳). در مطالعه بهالو و همکاران در ۲۰۱۱ در شهرکرد از بین ۱۰۰ ایزوله اشریشیاکلی جدا شده از بیماران مبتلا به عفونت ادراری (۳۰٪) *fimH*، (۴۰٪) *papC* و (۱۲٪) *aer* گزارش شده است که با نتایج مطالعه حاضر هم‌خوانی ندارد و ممکن است ایزوله‌های مورد بررسی در مطالعه بهالو از فاکتورهای ویرولانس دیگری استفاده کنند (۲۴). Zhao در سال ۲۰۰۹ شیوع ویرولانس فاکتورها و مقاومت آنتی‌بیوتیکی رادر ایزوله‌های اشریشیاکلی جدا شده از افراد مبتلا به عفونت ادراری در Jiangsu چین مورد بررسی قرار داد. فراوانی *fimH* و *papC* به ترتیب ۹۲٪، ۵۴٪ بود. ۹۳٪ ایزوله‌ها به نالیدیکسیک‌اسید.۹۰٪ به آمپی‌سیلین،۹۰٪ به مزلوسیلین، ۸۶٪ به تتراسیکلین، ۷۴٪ به سیپروفلوکساسین، ۷۳٪ به تری‌متوپریم‌سولفامتوکسازول، ۷۱٪ به لووفلوکساسین، ۶۸٪ به کانامایسین، ۶۳٪ به جنتامیسین، ۵۱٪ به سفوتاکسیم، ۳۶٪ به کلرامفنیکل، ۲۳٪ به نیتروفورا نتوئین،۲۲٪ به سفوکسیتین و ۴٪ به ایمی‌پنم مقاوم بودند (۲۵). از کاستی‌های مطالعه حاضر می‌توان به محدودیت جمعیت مورد مطالعه و عدم بررسی تمامی ژن‌های ویرولانس اشریشیاکلی اشاره کرد. اشریشیاکلی فاکتورهای ویرولانس متعددی دارد. آنچه در مطالعه حاضر مهم و بارز به نظر می‌رسد وجود شاخص‌تر ژن *fim H* نسبت به ادهزین *papC* می‌باشد. در واقع نقش این ژن در ظهور

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

[DOI: 10.18502/ssu.v29i3.6200]

باکتری اوری ناشی از اشرشیاکلی در بیماران چشم‌گیر است (۲۶). از آن‌جا که پروتئین *fim H* فاقد تنوع ژنتیکی می‌باشد، از این‌رو در بیشتر مطالعات انجام شده در مورد تهیه واکسن علیه عفونت ادراری این پروتئین مدنظر بوده است هم‌چنین در مطالعه حاضر درصد فراوانی ژن *aer* نسبت به مطالعات قبلی بیشتر می‌باشد که شاید یکی از علل آن، نقش مهم این ژن در پایداری باکتری و مقاومت آن در برابر سیستم ایمنی بدن است. افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی در جامعه ممکن است ناشی از استفاده نامناسب از آنتی‌بیوتیک، استفاده مداوم از آنتی‌بیوتیک در کشاورزی و حیوانات و برنامه‌های غیر موثر کنترل عفونت باشد. تخمین زده می‌شود که ۸۰ تا ۹۰ درصد داروهای ضدمیکروبی توسط افراد عادی و ۱۰ تا ۲۰ درصد باقی‌مانده توسط افراد بستری در بیمارستان مصرف می‌شود (۲۰). براساس یافته‌های مطالعه حاضر، ایزوله‌های جدا شده از بیماران مقاومت کمی به فسفومایسین و نیتروفورانتوئین دارند. هم‌چنین ایزوله‌ها مقاومت نسبتاً بالایی به نالیدیکسیک اسید وکوتریماکسازول دارند که احتمالاً ناشی از استفاده زیاد از این آنتی‌بیوتیک‌ها در درمان عفونت ادراری می‌باشد.

نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر، اولین مطالعه انجام شده از فراوانی ژن‌های *fim H*، *papC*، *aer*/*اشریشیاکلی* در شهر یزد می‌باشد. نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد فراوانی ژن *fim H* بیشتر از دو ژن دیگر می‌باشد و از آن‌جا که اولین مرحله برای ایجاد عفونت اتصال باکتری است و فیمبریه نقش مهم و کلیدی را برای اتصال فراهم می‌کند، این موضوع می‌تواند نقطه عطفی باشد تا در مطالعات بعدی به فکر طراحی واکسن علیه این فاکتور ویرولانس باشیم تا بدین طریق بتوانیم از ایجاد این عفونت در جامعه جلوگیری کنیم. مطالعات قبلی روی *fim H* نشان داده است که واکسن حاصل از *fim H* توانسته است موش‌های ایمن شده را به صورت فعال و غیرفعال در برابر اشریشیاکلی یوروپاتوژن محافظت کند. هم‌چنین مطالعه روی سرم حیوانات واکسینه شده با *fim H* نشان داده که این واکسن می‌تواند از اتصال باکتری یوروپاتوژن به سلول‌های مثانه انسان در شرایط آزمایشگاهی جلوگیری کند (۲۷). برای ارزیابی دقیق‌تر پیشنهاد می‌شود تا در مطالعات دیگر حضور دیگر عوامل ویرولانس نیز مورد بررسی قرار گیرد تا بتوان مقایسه‌ای بین این فاکتورها انجام داد. در نتیجه به دلیل شیوع فراوان عفونت ادراری در حضور این ژن‌ها تشخیص سریع آن‌ها در نمونه‌ها می‌تواند به درمان و مدیریت سریع بیماری کمک کند و از هزینه‌های زیادی که هر ساله برای درمان عفونت ادراری بر جامعه و خانواده بیمار تحمیل می‌شود جلوگیری کرد. هم‌چنین براساس نتایج این مطالعه، پیشنهاد می‌شود استفاده منطقی از داروهای موثر و به کارگیری ابزارهای مناسب کنترل در محیط‌های بیمارستانی مورد توجه پزشکان و متخصصین کنترل عفونت قرار بگیرد. هم‌چنین پیشنهاد می‌شود که با آموزش راهکارهای مناسب کنترل عفونت، به پرسنل پزشکی بخش‌های بیمارستانی از بروز و گسترش عفونت‌های ادراری در جامعه و مراکز درمانی جلوگیری کرد و سایر فاکتورهای بیماری‌زایی این ارگانیسم در سایر مناطق جغرافیایی کشور مورد بررسی قرار بگیرد تا اطلاعات جامع‌تری در بحث پیشگیری، درمان و نحوه مدیریت عفونت‌های ناشی از این ارگانیسم در اختیار محققین قرار بگیرد.

سپاس‌گزاری

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه دوره کارشناسی ارشد میکروب شناسی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد می‌باشد. نویسندگان این مقاله لازم می‌دانند از کارکنان آزمایشگاه میکروب شناسی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، بیمارستان شهیدصدوقی و شهدای کارگر یزد برای زحمات بی‌دریغشان قدردانی نمایند.

حامی مالی: این پایان‌نامه تحقیقاتی با حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد صورت گرفته است.

تعارض در منافع: وجود ندارد.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

[DOI: 10.18502/ssu.v29i3.6200]

References:

1-Tiba MR, Yano T, Leite Dds. ***Genotypic Characterization of Virulence Factors in Escherichia Coli Strains from Patients with Cystitis***. Revista Do Instituto De Medicina Tropical De Sao Paulo 2008; 50(5): 255-60.

2-Tarchouna M, Ferjani A, Ben-Selma W, Boukadida J. ***Distribution of Uropathogenic Virulence Genes in Escherichia Coli Isolated from Patients with Urinary Tract Infection***. International J Infectious Diseases 2013; 17(6): E450-E53.

3-Bien J, Sokolova O, Bozko P. ***Role of Uropathogenic Escherichia Coli Virulence Factors in Development of Urinary Tract Infection and Kidney Damage***. International J Nephrology 2012; 2012: 1-15.

4-Asadi S, Kargar M, Solhjoo K, Najafi A, Ghorbani-Dalini S. ***The Association of Virulence Determinants of Uropathogenic Escherichia Coli with Antibiotic Resistance***. Jundishapur J Microbiology 2014; 7(5): e9936.

5- López-Banda DA, Carrillo-Casas EM, Leyva-Leyva M, Orozco-Hoyuela G, Manjarrez-Hernández AH, Arroyo-Escalante S, et al. ***Identification of Virulence Factors Genes in Escherichia Coli Isolates from Women with Urinary Tract Infection in Mexico***. Biomed Research International 2014; 2014: 1-10.

6- Mukherjee M, Basu S, Mukherjee SK, Majumder M. ***Multidrug-Resistance and Extended Spectrum Beta-Lactamase Production in Uropathogenic E***. **Coli Which Were Isolated from Hospitalized Patients In Kolkata, India**. J Clin Diagn Res 2013; 7(3): 449-53.

7-Karimian A, Momtaz H,Madani M. ***Detection of Uropathogenic Escherichia Coli Virulence Factors in Patients with Urinary Tract Infections in Iran***. African J Microbiology Res 2012; 6(39): 6811-16.

8-Kumar Y, Sood S, Sharma A, Mani KR. ***Antibiogram and Characterization of Resistance Markers among Escherichia Coli Isolates from Urinary Tract Infections***. The J Infection in Developing Countries 2013; 7(07): 513-19.

9-Starčič Erjavec M, Žgur-Bertok D. ***Prevalence, Distribution and Genetic Association of Adhesin Gene Sequences of Escherichia Coli Isolates from Urinary Tract Infections in Slovenia***. Acta Biol Slov 2008; 51: 21-31.

10-Slavchev G, Pisareva E, Markova N. ***Virulence of Uropathogenic Escherichia Coli***. J Culture Collections 2009; 6(1): 3-9.

11-Szemiako K, Krawczyk B, Samet A, Śledzińska A, Nowicki B, Nowicki S, et al. ***A Subset of Two Adherence Systems, Acute Pro-Inflammatory Pap Genes and Invasion Coding Dra, Fim, Or Sfa, Increases the Risk of Escherichiacoli Translocation to the Bloodstream.*** European J Clinical Microbiology & Infectious Diseases 2013; 32(12): 1579-82.

12-Neamati F, Firoozeh F, Saffari M, Zibaei M. ***Virulence Genes and Antimicrobial Resistance Pattern in Uropathogenic Escherichia Coli Isolated from Hospitalized Patients in Kashan, Iran***." Jundishapur J Microbiology 2015; 8(2).

13-Wayne P. ***Clinical and Laboratory Standard Institute***. Performance Standard for Antimicrobial Susceptibilitytesting: Document M100-S23.

14-Hosseini SS, Eslami G, Zandi H, Vakili M. ***Frequency of OQXA and OQXB Plasmid-Mediated Quinolone Resistence Genese in Escherichia Coli Isolated from Urine of Inpatient with Urinary Tract***

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

[DOI: 10.18502/ssu.v29i3.6200]

Infection in YAZD City, IRAN. IUMS 2016; 34(402): 1211-17.

15- Sauer P, Gallo J, Kesselová M, Kolar M, Koukalová D. ***Universal Primers for Detection of Common Bacterial Pathogens Causing Prosthetic Joint Infection.*** Biomedical Papers-Palacky University in Olomouc Czech Repub 2005; 149(2): 285-8.

16- Santo E, Macedo C, Marin JM. ***Virulence Factors of Uropathogenic Escherichia Coli from a University Hospital in Ribeirão Preto, São Paulo, Brazil***. Revista Do Instituto De Medicina Tropical De Sao Paulo 2006; 48(4): 185-88.

17- Hassan R, El-Naggar W, El-Sawy E, El-Mahdy A. ***Characterization of Some Virulence Factors Associated with Enterbacteriaceae Isolated from Urinary Tract Infections in Mansoura Hospitals***. Egyptian J MedMicrobiology 2011; 20(2): 9-17.

18- Ranjbar R, Farahani O. ***The Prevalence of Virulence Genes and Virulotypes of Escherichiacoli Strains Isolated from Hospital Wastewaters in Tehran, Iran***. Iran J Public Health 2018; 47(5): 713-19.

19- Farshad S, Ranjbar R, Anvarinejad M, Shahidi MA, Hosseini M. ***Emergence of Multi Drug Resistant Strains of Eschetichiacoli Isolated from Urinary Tract Infection.*** The Open Conference Proceedings J 2010; 1(1): 192-96.

20- Pourzare M, Derakhshan S, Roshani D. ***Distribution of Uropathogenic Virulence Genes in Escherichiacoli Isolated from Children with Urinary Tract Infection in Sanandaj, Iran***. Archives of Pediatric Infectious Diseases 2017. [Persian]

21- Raeispour M, Ranjbar RJAR, Control I. ***Antibiotic Resistance, Virulence Factors and Genotyping of Uropathogenic Escherichiacoli Strains***. Antimicrobial Resistance & Infection Control 2018; 7(1): 118.

22- Peymani D. ***Frequency of P and Type 1 Fimbriae-Encoding Genes among Uropathogenic Escherichiacoli Isolated From Hospitalized Patients in Qazvin and Karaj Hospitals*** 2015.

23- Mladin C, Usein CR, Chifiriuc MC, Palade A, Slavu CL, Negut M, et al. ***Genetic Analysis of Virulence and Pathogenicity Features of Uropathogenic Escherichiacoli Isolated from Patients with Neurogenic Bladder***. Romanian Biotechnological Letters 2009; 14(6): 4900-5.

24- Bahalo S, Tajbakhsh E, Tajbakhsh S, Momeni M, Tajbakhsh F. ***Detection of Some Virulence Factors of Escherichiacoli Isolated from Urinary Tract Infection Isolated of Children in Shahrekord Iran by Multiplex PCR***. Middle-East J Scientific Res 2013; 14(1): 29-32.

25- Zhao L, Chen X, Zhu X, Yang W, Dong L, Xu X, et al. ***Prevalence of Virulence Factors and Antimicrobial Resistance of Uropathogenic Escherichiacoli in Jiangsu Province (China***). Urology 2009; 74(3): 702-7.

26- Saki A, Mirzaee M. ***Frequency of Fimbrial Virulence Genese (FIM, PAP, SFA) in Escherichiacoli Isolated from the Patients with Urinary Tract Infection from Selective Hospitals of Tehran, Boroujerd and Sanandej City in 2015-2016***. JSSU 2017; 24(11): 913-23.

27- Thankavel K, Madison B, Ikeda T, Malaviya R, Shah AH, Arumugam PM, et al. ***Localization of a Domain in the Fimh Adhesin of Escherichia Coli Type 1 Fimbriae Capable of Receptor Recognition and Use of A Domain-Specific Antibody to Confer Protection Against Experimental Urinary Tract Infection***. J Clin Invest 1997; 100(5): 1123-36.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

[DOI: 10.18502/ssu.v29i3.6200]

Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences
Vol 29| NO 3 | Jun 2021
Received: 30 July 2019
Accepted: 10 Aug 2019

Frequency of *fimH*, *papC*, and *aer* in *E. coli* Strains Isolated from Patients with Urinary Tract Infection, and their Antibiotic Resistance Pattern

Zahra Abdolahzadeh[1], Akram Astani[2], Ahmad Mosadegh[†3], Saeede Sadat Hosseini Mohammad Abadi[4], Mahmoud Vakili[5]

Original Article

Introduction: *E. coli* is the predominant causes of urinary tract infection. Several virulence factors for bacterial infections in the urinary tract are required. In this study, we have considered several virulence factors in strains isolated from the patients with UTI in Yazd.

Methods: In this cross-sectional study in 2015-2016, 146 strains isolated were collected from the patients with urinary tract infection. After confirmation by phenotypic and genotype methods, frequency of gene *fimH, pap C, aer* was evaluated using specific primers by PCR method. The pattern of antibiotic resistance of isolates was determined by disk diffusion method.

Results: In the present study, the prevalence of virulence genes was *fimH* (87%), *aer* (85.6%) and *papC* (9.6%). Among 146 *E. coli* isolates, resistance rate for various antibiotics were as follows: 57.2% to Cotrimoxazole, 54.8% to Nalidixic acid, 45.9% to Cefazolin, 40.4% to Cefixime, 42.5% to Cefalotin, 41.8% to Cefalexin, 31.5% to Norfloxacin, 30.1% to Ofloxacin, 28.3% to Ciprofloxacin, 24% to Gentamicin, 19.9% to Amikacin, 1.4% to Nitrofurantoin, and 1.4% to phosphomycin. The results showed that the most and less frequent resistant was seen in Cotrimoxazole and Nitrofurantoin, phosphomycin, respectively.

Conclusion: In this study, the frequency of *fimH* gene was higher than other genes. In addition, according to the pattern of antibiotic resistance nitrofurantoin and phosphomycin are suitable medicines for the treatment of patients in our region.

Keywords: *Escherichia coli*, UTI, virulence factor, *aer*, *papC*, *fimH*, Antibiotic Resistance.

Citation: Abdolahzadeh Z,Astani A, Mosadegh A, Hosseini Mohammad Abadi S , Vakili M. **Frequency of *fimH*, *papC*, and *aer* in *E. coli* Strains Isolated from Patients with Urinary Tract Infection, and their Antibiotic Resistance Pattern.** J Shahid Sadoughi Uni Med Sci 2021; 29(3): 3556-65

[1-4]Department of Microbiology, School of Medicine, Shahid Sadoghi University of Medical Sciences and Health Services, Yazd, Iran.
[5]Health Monitoring Research Center, School of Medicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences and Health Services, Yazd, Iran.
***Corresponding author: Tel:**09131527495, **email:**Mosadegh14@yahoo.com

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

[DOI: 10.18502/ssu.v29i3.6200]