

پروکلسمی توینین سرمی یک عامل پیش‌بینی کننده پاسخ به درمان در بیماران مبتلا به سپسیس باکتریال بستری در ICU

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۸/۱۰/۲۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۸/۱۲/۱۵

چکیده

زمینه و هدف: سپسیس از علل اصلی مرگ بیماران شدیداً بدحال می‌باشد که در بخش مراقبت‌های ویژه بستری هستند. به نظر می‌رسد بخشی از علت زیاد بودن مرگ و میر در سپسیس ناشی از کمبود علاج‌بالینی هشداردهنده اختصاصی در این بیماران برای تشخیص زود هنگام آن است. گزارشات برخی مطالعات اخیر حاکی از افزایش سطح سرمی پروکلسمی توینین در این دسته از بیماران می‌باشد اما تغییرات سرمی آن به دنبال درمان نامعلوم مانده است. هدف مطالعه حاضر، بررسی و اندازه‌گیری سطح سرمی پروکلسمی توینین در بیماران مبتلا به عفونت شدید باکتریال که در بخش مراقبت‌های ویژه بستری بودند، قبل و طی درمان و مقایسه آن با پاسخ به درمان بوده است. روش بررسی: با طراحی یک مطالعه مقطعی از بیمارانی که به علت بیماری عفونی باکتریال در ICU بستری شده بودند در سه نوبت، روز اول، سوم و هفتم بستری، خون‌گیری انجام شد. با استفاده از کیت Q-PCT پروکلسمی توینین نمونه‌های سرم اندازه‌گیری شد. **یافته‌ها:** تعداد ۳۵ بیمار (۲۲ مرد و ۱۳ زن) معیارهای ورود به تحقیق را کسب کردند از این تعداد ۱۸ بیمار فوت نمودند. اکثر بیماران [۱۶ نفر (۴۵٪)] در روز اول بستری دارای سطح سرمی پروکلسمی توینین بیش از ۱۰ ng/ml بودند و آنهایی که پاسخ به درمان دادند این مقدار به کمتر از ۰/۵ ng/ml رسید [۱۴ نفر (۷۷٪)]. به طوری که میانگین رتبه سطح سرمی پروکلسمی توینین در روز اول از ۱/۱۴ به ۲/۷۲ در روز هفتم رسید که کاملاً معنی‌دار بود ($p<0.0001$). **نتیجه‌گیری:** این مطالعه نشان داد که سطح سرمی پروکلسمی توینین در بیماران بستری در ICU به دنبال پاسخ به درمان کاهش معنی‌دار پیدا می‌کند لذا توصیه می‌شود که در کلیه بیمارانی که تشخیص بیماری عفونی باکتریال در آنها مطرح است از تست پروکلسمی توینین برای اندازه‌گیری سطح سرمی آنها در ابتدای بیماری استفاده شود و در حین درمان نیز با این تست وضعیت بیمار تعقیب شود.

کلمات کلیدی: سپسیس، پروکلسمی توینین، پیش‌آگهی.

احمدرضا میبن^{۱*}
صفر شمس^۲

۱- گروه بیماری‌های عفونی و گرم‌سیری،
دانشگاه علوم پزشکی زنجان
۲- علوم آزمایشگاهی، دانشگاه علوم پزشکی
همدان

*نویسنده مسئول، زنجان، خیابان شیخ فضل... نوری
پیمارستان ولی‌عصر بخش بیماری‌های عفونی
تلفن: ۰۹۱۶۱۹۱۳۰،
email: amobaien@yahoo.com

مقدمه

شدن عوامل ضد میکروبی می‌شود. لذا تست‌های آزمایشگاهی کهالتهاب غیرعفونی و سپسیس را افتراق دهنده بسیار مفید هستند. به همین دلیل مطالعات زیادی در دهه اخیر برای دسترسی به مارکرهایی که بتوان از آنها برای تشخیص زودرس سپسیس استفاده کرد انجام شده است.^۱ از جمله مطالعاتی در مورد سطح سرمی پروکلسمی توینین نتایج آن حاکی از افزایش سطح سرمی پروکلسمی توینین در این دسته از بیماران می‌باشد.^۲ پروکلسمی توینین به عنوان یک پروهورمون کلسمی توینین یک پلی‌پپتید ۱۱۶ اسید آمینه‌ای با وزن مولکولی ۱۳

سپسیس (Sepsis) و عوارض مرتبط با سپسیس هنوز از علل اصلی مرگ در بیماران شدیداً بدحال بستری بخش مراقبت‌های ویژه است. حداقل بخشی از علی مرگ و میر زیاد سپسیس در اثر کمبود علاج‌بالینی اختصاصی برای تشخیص زود هنگام بیماری است.^۱ نبود مارکر اختصاصی عفونت منجر به بروز مشکلاتی در افتراق سندروم پاسخ التهابی سیستمیک Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS) ناشی از عوامل عفونی از غیرعفونی گردیده است و در نتیجه موجب کم مصرف شدن یا در برخی موارد زیاد مصرف

وقتی که این تست با تست PCR کمی مقایسه شد دیده شد که Q-PCT-Q حساسیت و اختصاصی بودن بالاتری برای تشخیص سپسیس در بیماران شدیداً بحال (نوزاد و کودک) دارد.^{۱۵} همچنین تأیید شد که این تست اندیکاتور قابل قبولی جهت غلظت PCT در بیماران فوت شده است بنابراین این تست حتی به عنوان یک مارکر سریع در تشخیص افتراقی مرگ به دنبال سپسیس از علل غیر سپسیس پذیرفته شده است.^{۱۶} هدف از انجام این مطالعه بررسی ارتباط بین تغییرات سطح سرمی پروکلسی تونین با پاسخ به درمان در بیماران شدیداً بحال بستری در ICU و مبتلا به سپسیس بود.

روش بررسی

در این تحقیق با طراحی یک مطالعه بررسی مقطعی (Cross sectional) در بخش‌های مراقبت ویژه در بیمارستان‌های وابسته به دانشگاه علوم پزشکی همدان در طی سال‌های ۱۳۸۷-۸۸ انجام شد. از بیمارانی که به علت بیماری عفونی باکتریال در ICU بستری شده بودند و بنا به معیارهای سپسیس، مبتلا به سپسیس در مراحل مختلف شناخته شدند (با توجه به معیارهای توافق نامه انجام شده در کنفرانس مشترک بین انجمن مراقبت‌های حیاتی پزشکی و کالج پزشکان قفسه سینه امریکا در سال ۱۹۹۲).^{۱۷-۲۰} پس از اخذ رضایت از بیمار یا همراه او، در سه نوبت، بدو بستری [حداکثر ظرف شش ساعت از شروع بیماری، قبل از دریافت سه دوز آنتی‌بیوتیک (کمتر یا مساوی دو دوز آنتی‌بیوتیک)] و سپس در روزهای سوم و هفتم بستری، خون‌گیری شامل ۳ml خون کامل بدون ماده ضد انعقاد بود. با روش استاندارد، سرم جدا شده در من‌های ۷۰°C هنگام آزمایش، نگهداری شد. با استفاده از کیت B.R.A.H.M.S-PCT.Q (آلمان)، میزان پروکلسی تونین نمونه‌های سرم در آزمایشگاه رفرازنس دانشگاه علوم پزشکی همدان، اندازه‌گیری شد. با توجه به استاندارد کیت مربوطه، برای تشخیص عفونت باکتریال، غلظت بیشتر یا مساوی از ۵ng/ml تشخیصی قلمداد شد. از نرم‌افزار SPSS ویراست ۱۵، آزمون آماری Friedman^{۲۱} و آزمون پارامتری Wilcoxon signed ranks استفاده و مقادیر $p < 0.05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

سی و پنج بیمار که معیارهای ورود به طرح را داشتند وارد مطالعه

کیلوالتون است و توسط سلول‌های C از غله تیرویید در پاسخ به هیپرکلسمی، ترشح می‌شود و با آنزیم‌های پروتئولیتیک به صورت ایتراسلولار به هورمون فعل تبدیل می‌شود. پروکلسی تونین در هنگام سپسیس توسط ماکروفازها و مونوسیت‌های ارگان‌های مختلف تولید و به داخل جریان خون آزاد می‌شود.^{۲۵} غلظت خونی آن در افراد سالم کمتر از حد قابل شناسایی است و در التهاب سیستمیک خصوصاً عفونت‌های باکتریال افزایش می‌یابد^{۲۶} و در ارتباط قوی با عفونت باکتریال سیستمیک است.^۷ مکانیزمی که باعث افزایش تولید پروکلسی تونین به دنبال التهاب می‌شود، هنوز به طور کامل شناخته نشده است. عقیده براین است که پروکلسی تونین توسط کبد و سلول‌های مونونوکلئر خون محیطی، تولید و توسط لیپوپلی ساکاریدها و سایتوکین‌های در ارتباط با سپسیس، تنظیم می‌شود. ترشح پروکلسی تونین ظرف حدوداً چهار ساعت بعد از تحریک، شروع می‌شود و پیک خونی ظرف هشت ساعت حاصل می‌شود. موقعی که سطح خونی آن افزایش می‌یابد بیشتر به علت تولید خارج تیروییدی آن در عفونت شدید (باکتریال، قارچی، انگلی) همراه با عالیم سیستمیک، خصوصاً در حضور شوک سپتیک است.^۸ لذا عقیده بر این است که بررسی پروکلسی تونین یک بررسی حساس با افتراق واضح بین عفونت‌های میکروبی و غیرمیکروبی است.^۹ در ضمن پروکلسی تونین یک مارکر اختصاصی پذیرفته شده برای عفونت باکتریال در بیماران مشکوک به سپسیس^{۱۰} و یک راهنمای خوب برای شروع آنتی‌بیوتیک در بیماران بستری در بخش‌های اورژانس به علت عفونت تنفسی می‌باشد.^{۱۲} همچنین این مارکر ابزار مفیدی برای کوتاه کردن دوره درمان آنتی‌بیوتیکی در بیماران بستری در بیمارستان به علت پنومونی اکتسابی از جامعه Community Aquired Pneumonia (CAP) معرفی شده است.^{۱۳} پروکلسی تونین در مواردی نیز ممکن است علی‌رغم مطرح نبودن عفونت باکتریال مثبت باشد از جمله در بیماران با ترومahuای مکانیکال، در گرمایشگی، در ترومahuای جراحی، در نوزادان و برخی از تومورها از جمله تومورهای تیرویید و اسکواموس سل کارسینوما.^{۱۴} اخیراً یک تست با صرفه از نظر اقتصادی به نام PCT-Q (کیت نیمه کمی پروکلسی تونین (S-PCT.Q) تولید شرکت B.R.A.H.M.، ساخت کشور آلمان) در دسترس است که نیمه کمی است. این تست می‌تواند از روی مقادیر ناچیزی از خون بیمار به سرعت مقدار نیمه کمی پروکلسی تونین خون را تعیین کند.

اختصاص داد. پس از نمونه‌گیری نوبت دوم (روز سوم) و قبل از نمونه‌گیری نوبت سوم که باید در روز هفتم مطالعه انجام می‌شد تعداد ۹ نفر دیگر از بیماران فوت نمودند از آنها که باقی مانده بودند مجدداً نمونه‌گیری شد و سطح سرمی پروکلسی‌تونین اندازه‌گیری شد. دیده شد که هیچ‌یک از این افراد دارای پروکلسی‌تونین بیشتر یا مساوی 10 ng/ml نبودند و ۱۴ نفر (۷۷٪/۸) از آنها دارای سطح سرمی پروکلسی‌تونین کمتر از 10 ng/ml بودند.

برای بررسی آماری مجموعه نتایج به دست آمده در این مراحل از آزمون Friedman test استفاده شد و مشاهده شد که در مجموع، نتایج حاصله از این مطالعه معنی‌دار است و به عبارتی با بهبود وضعیت بیمارانی که زنده مانده بودند و پاسخ مناسب به درمان داده بودند سطح سرمی پروکلسی‌تونین کاهش معنی‌داری پیدا کرده ($p<0.0001$) به طوری که میانگین رتبه سطح سرمی پروکلسی‌تونین در روز اول از میزان $1/14$ به $2/72$ در روز هفتم رسید (جدول ۱ و ۲). همچنین برای بررسی معنی‌دار بودن اختلافات پیدا شده در بین روزهای مختلف نمونه‌گیری از آزمون پارامتری "Wilcoxon signed ranks" استفاده شد این آزمون نشان داد که تغییر سطح سرمی پروکلسی‌تونین بین روز اول و سوم، روز سوم با روز هفتم و روز اول با روز هفتم از نظر آماری معنی‌دار است.

شدن. از این تعداد ۲۲ نفر مرد (۶۲٪/۹) و ۱۳ نفر زن (۳۷٪/۱) بودند. میانگین سنی کلیه افرادی که وارد طرح شدند 61 ± 24 سال با محدوده سنی حداقل ۱۵ و حداًکثر ۹۲ سال بود. از کل بیمارانی که وارد مطالعه شده بودند تعداد ۱۸ بیمار (۵۱٪/۴) فوت نمودند و تنها ۱۷ بیمار (۴۸٪/۶) زنده ماندند. از لحاظ محل ابتلا بیشترین محل درگیری را ریه با ۲۱ مورد (۶۰٪) و سپس CNS و سیستم ادراری هر کدام پنج مورد (۱۴٪) را تشکیل می‌دادند در حالی که کمترین درگیری در قلب (یک مورد) بافت نرم (یک مورد) لگن (یک مورد) و باکتریمی (یک مورد) (هر کدام ۱۴٪) بود. با توجه به اینکه کیت PCT-Q سطح سرمی پروکلسی‌تونین را به صورت نیمه کمی در چهار دارای پروکلسی‌تونین بیشتر یا مساوی 10 ng/ml با تعداد ۱۶ بیمار (۴۵٪) تشکیل می‌دادند و هیچ‌یک از بیماران دارای پروکلسی‌تونین کمتر از 10 ng/ml نبود. بدنبال نمونه‌گیری اول (روز اول) هشت بیمار فوت نمودند و تنها ۲۸ بیمار وارد مرحله دوم تحقیق شدند در نمونه‌گیری که در روز سوم (نمونه دوم) از آنها که زنده مانده بودند انجام شد تنها سه بیمار دارای پروکلسی‌تونین بیشتر یا مساوی 10 ng/ml بود و تعداد کسانی که سطح سرمی آنها به کمتر از 10 ng/ml رسیده بود به 10 بیمار (۳۷٪) رسید و اکثریت را به خود می‌باشد.

جدول-۱: مقایسه سطح سرمی پروکلسی‌تونین در بیماران تحت مطالعه در طی زمان بستری در بیمارستان (تعداد/ درصد)

P^*	PCT در روز هفتم	PCT در روز سوم	PCT در روز اول	محدوده سطح سرمی
$p<0.0001$	---	۳(۱۱٪)	۱۶(۴۵٪)	$\geq 10\text{ ng/ml}$
	۱(۵٪)	۷(۲۵٪)	۷(۲۰٪)	$\geq 2 < 10\text{ ng/ml}$
	۳(۱۶٪)	۷(۲۵٪)	۱۲(۴۴٪)	$\geq 0.5 < 2\text{ ng/ml}$
	۱۴(۷۷٪)	۱۰(۳۷٪)	---	$< 0.5\text{ ng/ml}$
	۲/۷۲	۲/۱۴	۱/۱۴	میانگین رتبه سطح سرمی

*آزمون آماری Friedman test. $p<0.05$ معنی‌دار می‌باشد.

جدول-۲: مقایسه سطح سرمی پروکلسی‌تونین در بیماران تحت مطالعه بر حسب پیامد بیماری (تعداد/ درصد)

P^*	بیماران فوت شده	بیماران زنده مانده	بیماران زنده مانده در ICU	محدوده سطح سرمی
$p=0.48$	۱۰(۵۵٪)	۶(۵۳٪)	۶(۵۳٪)	$\geq 10\text{ ng/ml}$
	۳(۱۶٪)	۴(۲۳٪)	۴(۲۳٪)	$\geq 2 < 10\text{ ng/ml}$
	۵(۲۷٪)	۷(۴۱٪)	۷(۴۱٪)	$\geq 0.5 < 2\text{ ng/ml}$

*آزمون آماری Pearson χ^2 . $p<0.05$ معنی‌دار می‌باشد.

بحث

از بستری را داشتند که تقریباً همه آنها زنده ماندند. در این مطالعه سطح سرمی پروکلسی‌تونین در روز هفت نیز اندازه‌گیری شده بود هیچ یک از بیمارانی که به نمونه‌گیری سوم رسیده و زنده مانده بودند سطح سرمی پروکلسی‌تونین بیش از 10 ng/ml نداشتند لذا اگر زنده ماندن این افراد نشان بر پاسخ به درمان در نظر گرفته شود دیده شد که در ارتباط مستقیم با کاهش سطح سرمی پروکلسی‌تونین است ($p<0.0001$). در مطالعه روی پروکلسی‌تونین Hladik و همکاران نیز گزارش کردند که سطح سرمی پروکلسی‌تونین یک معیار حساس جهت افتراق واضح بین عفونت‌های میکروبی از غیرمیکروبی و تعیین فعال بودن آن و پیشگویی پاسخ به درمان است.⁹ بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه دیده شد که سطح سرمی پروکلسی‌تونین به دنبال پاسخ به درمان کاهش معنی‌داری پیدا می‌کند. لذا توصیه می‌شود که در کلیه بیمارانی که تشخیص بیماری عفونی باکتریال در آنها حتمی نیست از آزمایش پروکلسی‌تونین استفاده شود و با این تست نه تنها در ابتدای بیماری سطح سرمی پروکلسی‌تونین اندازه‌گیری شود بلکه حین درمان نیز با این تست وضعیت بیمار تعقیب شود. سپاسگزاری: از معاونت محترم تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی همدان خصوصاً دکتر عباس زمانیان که در به انجام رساندن این مطالعه ما را یاری نمودند، کمال تşker و سپاس را داریم. در ضمن از مهندس خسرو مانی که در بررسی آماری این مطالعه کمال همکاری را داشتند قدردانی و سپاسگزاری می‌شود.

References

- Brown EM, McGriff JT, Malinowski RW. Intravenous regional anaesthesia (Bier block): review of 20 years' experience. *Can J Anaesth* 1989;36(3 Pt 1):307-10.
- Aalto H, Takala A, Kautainen H, Repo H. Laboratory markers of systemic inflammation as predictors of bloodstream infection in acutely ill patients admitted to hospital in medical emergency. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2004;23(9):699-704.
- Harbarth S, Holeckova K, Froidevaux C, Pittet D, Ricou B, Grau GE, et al. Diagnostic value of procalcitonin, interleukin-6, and interleukin-8 in critically ill patients admitted with suspected sepsis. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;164(3):396-402.
- Simon L, Gauvin F, Amre DK, Saint-Louis P, Lacroix J. Serum procalcitonin and C-reactive protein levels as markers of bacterial infection: a systematic review and meta-analysis. *Clin Infect Dis* 2004;39(2):206-17.
- Chan YL, Tseng CP, Tsay PK, Chang SS, Chiu TF, Chen JC. Procalcitonin as a marker of bacterial infection in the emergency department: an observational study. *Crit Care* 2004;8(1):R12-20.
- Muller B. Endocrine aspects of critical illness. *Ann Endocrinol (Paris)* 2007;68(4):290-8.
- Florianczyk B. Structure and diagnostic value of procalcitonin. *Ann Univ Mariae Curie Skłodowska Med* 2003;58(1):338-42.
- Christ-Crain M, Müller B. Procalcitonin in bacterial infections--hype, hope, more or less? *Swiss Med Wkly* 2005;135(31-32):451-60.
- Yukioka H. Infection and plasma procalcitonin. *Clin Calcium* 2005;15(3):152-7.
- Hladík M, Olosová A, Neiser J, Zaoral T. Procalcitonin: a marker and mediator of inflammation. *Acta Chir Plast* 2005;47(2):51-4.
- Assicot M, Gendrel D, Carsin H, Raymond J, Guilbaud J, Bohuon C. High serum procalcitonin concentrations in patients with sepsis and infection. *Lancet* 1993;341(8844):515-8.
- Simon L, Gauvin F, Amre DK, Saint-Louis P, Lacroix J. Serum procalcitonin and C-reactive protein levels as markers of bacterial infection: a systematic review and meta-analysis. *Clin Infect Dis* 2004;39(2):206-17.
- Christ-Crain M, Jaccard-Stolz D, Bingisser R, Gencay MM, Huber PR, Tamm M, et al. Effect of procalcitonin-guided treatment on antibiotic use and outcome in lower respiratory tract infections: cluster-randomised, single-blinded intervention trial. *Lancet* 2004;363(9409):600-7.

14. Christ-Crain M, Stoltz D, Bingisser R, Müller C, Miedinger D, Huber PR, et al. Procalcitonin guidance of antibiotic therapy in community-acquired pneumonia: a randomized trial. *Am J Respir Crit Care Med* 2006;174(1):84-93.
15. Christ-Crain M, Müller B. Procalcitonin in bacterial infections: hype, hope, more or less? *Swiss Med Wkly* 2005;135(31-32):451-60.
16. Casado-Flores J, Blanco-Quirós A, Nieto M, Asensio J, Fernández C. Prognostic utility of the semi-quantitative procalcitonin test, neutrophil count and C-reactive protein in meningococcal infection in children. *Eur J Pediatr* 2006;165(1):26-9.
17. Boo NY, Nor Azlina AA, Rohana J. Usefulness of a semi-quantitative procalcitonin test kit for early diagnosis of neonatal sepsis. *Singapore Med J* 2008;49(3):204-8.
18. Ramsthaler F, Kettner M, Mall G, Bratzke H. The use of rapid diagnostic test of procalcitonin serum levels for the postmortem diagnosis of sepsis. *Forensic Sci Int* 2008;178(2-3):139-45.
19. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference: definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Crit Care Med* 1992;20(6):864-74.
20. Balk RA. Severe sepsis and septic shock. Definitions, epidemiology, and clinical manifestations. *Crit Care Clin* 2000;16(2):179-92.
21. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, et al. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Crit Care Med* 2003;31(4):1250-6.
22. Charles PE, Tinell C, Barbar S, Aho S, Prin S, Doise JM, et al. Procalcitonin kinetics within the first days of sepsis: relationship with the appropriateness of antibiotic therapy and the outcome. *Crit Care* 2009;13(2):R38.

Plasma procalcitonin level as a predictor of treatment response in ICU patients with bacterial sepsis

Ahmad Reza Mobaien M.D.^{*1}
Safar Shams²
(Dr. Clinical Laboratory Scientist (DCLS))

1- Department of Infectious Diseases, Zanjan University of Medical Sciences.
2- Department of Clinical Laboratory Scientist, Hamadan University of Medical Sciences.

Abstract

Received: January 11, 2010 Accepted: March 19, 2010

Background: Sepsis is one of the most important causes of mortality in severely ill ICU patients. At least, a part of high mortality rate in sepsis patients is due to less specific clinical symptoms for prompt diagnosis. Recently some studies report that serum levels of procalcitonin will increase in these patients but changes of serum levels following treatments is not known. This study was designed to determine procalcitonin levels in patients with bacterial infectious disease in ICU, initially and during therapy and compare the levels during response to treatment.

Methods: This prospective cross-sectional study was conducted on ICU patients with infectious diseases, blood specimen collected on day 1 and then in days 3 and 7 of ICU admission. The semi-quantitative PCT-Q test was performed.

Results: Thirty five patients, 22(62.9 %) men and 13(37.1%) women, were enrolled in this study. 18(51.4%) patients died. Procalcitonin level in most patients in admission day was more than 10 ng/ml [16 (45.7%)] but in patients that react to treatment, decline to lower than 0.5 ng/ml [14(77.8%)]. Mean rank of procalcitonin level from 1.14 ng/ml in first day reached to 2.72 ng/ml in seventh day ($p<0.0001$).

Conclusions: This study showed that serum procalcitonin levels in ICU patients with bacterial sepsis significantly decrease following response to treatment. The measurement of serum procalcitonin in ICU patients with bacterial infectious diseases at first arrival day and following treatment is recommended.

Keywords: Sepsis, procalcitonin, prognosis.

*Corresponding author Department Of Infectious Diseases, Valiasr Hospital, fazlolah ave., Zanjan.
Tel: +98-241- 7123303
email: amobaien@yahoo.com