

# خون

فصلنامه علمی پژوهشی

دوره ۹ شماره ۴ زمستان ۹۱ (۳۹۹-۴۰۵)

مقاله پژوهشی

## کارآیی یک سیستم کشت خون نیمه خودکار جهت نمایش آلودگی باکتریایی در واحدهای پلاکت

ابوالفضل دبیرمقدم<sup>۱</sup>، فرهاد رازجو<sup>۲</sup>، اسماعیل کوکب سیار<sup>۳</sup>

### چکیده

#### سابقه و هدف

آلودگی باکتریایی واحدهای پلاکتی، عامل مهمی در مرگ و میر ناشی از تزریق پلاکت می‌باشد. در این تحقیق کارآیی یک سیستم کشت خون نیمه خودکار به منظور شناسایی عوامل باکتریایی در هنگام به کارگیری کمترین مقدار عوامل مؤثر در تشخیص آلودگی باکتریایی واحدهای پلاکتی، مورد ارزیابی قرار گرفت.

#### مواد و روش‌ها

مطالعه انجام شده از نوع توصیفی بود. در این مطالعه از باکتری اشريشیاکلی (*E.coli*) و استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، رقت  $10\text{ CFU/mL}$  تهیه و به واحدهای پلاکتی تلقیح شد. سپس در زمان‌های صفر، ۶، ۲۴ و ۴۸ ساعت به میزان  $1, 0.5, 1$  و  $2$  میلی لیتر نمونه برداشته و به ویال‌های کشت پلاکت تزریق گردید. نمایش آلودگی باکتری‌ها توسط سیستم کشت خون نیمه خودکار Bact/Alert بررسی شد.

#### یافته‌ها

باکتری *E.coli* در  $100\%$  نمونه‌ها هنگامی که  $1, 0.5$  و  $2$  میلی لیتر از نمونه‌ها در زمان‌های صفر، ۶، ۲۴ و ۴۸ ساعت از واحدهای آلوده گرفته شده بودند، مثبت شدند. در مورد استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، در  $83/3\%$  از این واحدها هنگامی که  $1, 0.5$  یا  $1$  میلی لیتر در زمان صفر نمونه برداری شده و در  $91/6\%$  که در زمان صفر به میزان  $2$  میلی لیتر نمونه برداری شده بودند مثبت شدند. هم چنین استاف اپیدرمیدیس در  $100\%$  واحدهای آلوده هنگامی که  $1, 0.5$  و  $2$  میلی لیتر از آن‌ها در زمان‌های  $6, 24$  و  $48$  ساعت نمونه برداری شده بودند، مثبت شدند.

#### نتیجه‌گیری

این مطالعه نشان می‌دهد که زمان نمونه برداری صفر و شش ساعت از واحدهای پلاکتی آلوده شده به میزان  $0.5$  میلی لیتر به ترتیب جهت اطمینان از نمایش آلودگی باکتری‌های *E.coli* و استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس با استفاده از این سیستم مناسب می‌باشد.

**کلمات کلیدی:** پلاکت‌های خون، اشريشیاکلی، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس

تاریخ دریافت: ۹۰/۸/۱۰

تاریخ پذیرش: ۹۱/۱/۱۹

۱- مؤلف مسؤول: کارشناس ارشد میکروب‌شناسی پژوهشکی - مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون و مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون - تهران - ایران - صندوق پستی: ۱۴۶۶۵-۱۱۵۷

۲- متخصص آسیب‌شناسی - استادیار مرکز تحقیقات انتقال خون و مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون - تهران - ایران

۳- کارشناس میکروب‌شناسی - مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون و مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون - تهران - ایران

حجم نمونه مورد نظر و زمان برداشت نمونه، مورد ارزیابی قرار دهیم.

### مواد و روش‌ها

در یک مطالعه توصیفی و تشخیصی از واحدهای پلاکتی جمع‌آوری شده در کیسه‌های JMS در روز اول تهیه استفاده شد. پلاکت‌ها تا زمان انجام آزمایش در انکوباتور شیکردار در محدوده دمایی ۲۶–۲۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شده بودند. جامعه مورد مطالعه مربوط به پلاکت‌هایی بود که به واحد کنترل کیفی پایگاه تهران ارسال شده بود. نمونه‌گیری به روش تصادفی ساده انجام شد. جهت ارتقای روش‌های تشخیصی در امر آلودگی‌های باکتریایی، سازمان غذا و داروی امریکا (FDA) دستگاه کشت اتوماتیک Bact/Alert را برای غربالگری پلاکت‌ها از نظر آلودگی‌های باکتریایی مورد تایید قرار داده است<sup>(۶)</sup>. در سیستم Bact/Alert ، اساس شناسایی باکتری در فرآورده خون مبتنی بر تولید گاز CO<sub>2</sub> می‌باشد. این سیستم با به کارگیری محیط اختصاصی شده برای دستگاه، امکان پایش مداوم کشت را در صفحه نمایشگر دستگاه ممکن می‌سازد. با توجه به کارآیی بالای این سیستم و اهمیت سرعت تشخیص آلودگی باکتریایی در پیشگیری از بروز عفونت در گیرنده پلاکت، در این مطالعه از این سیستم استفاده شده است.

در این مطالعه از باکتری‌های استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس و اشنریشیاکلی خالص و ایزوله شده که قبلاً با واکنش‌های بیوشیمیایی مورد ارزیابی و تایید قرار گرفته بودند، جهت تلقیح به واحدهای پلاکتی استفاده شد. برای این کار، کشت‌های تازه از باکتری‌های مورد نظر با استفاده از تلقیح کلنی‌های ایزوله شده به محیط تریپتیکیس سوی براث(ساخت کمپانی مرک آلمان) تهیه شد. سپس از کلنی‌های تازه این باکتری‌ها مطابق با استاندارد ۰/۵ مک فارلند، رقت  $10 \text{ CFU/mL}$  به شدت در  $10 \text{ CFU/mL}$  غلظتی از باکتری می‌باشد که دستگاه Bact/Alert عموماً قابلیت تشخیص مطمئن آن را دارد است<sup>(۵)</sup>. این غلظت از ۲ نوع باکتری تهیه شده که هر کدام جداگانه به ۱۲ واحد پلاکت که به طور اتفاقی انتخاب شده بودند تلقیح شد.

### نتایج

آلودگی باکتریایی فرآورده‌های خون به عنوان یک خطر عمدۀ عفونی در انتقال خون مطرح می‌باشد<sup>(۱)</sup>. در این میان پلاکت‌ها به علت شرایط نگهداری‌شان در دمای ۲۶–۲۲ درجه سانتی‌گراد، مستعد آلودگی با عوامل باکتریایی محیطی می‌باشند<sup>(۳،۲)</sup>. میزان شیوع این آلودگی در واحدهای پلاکتی ۱ به ۱۰۰۰ تا ۱ به ۲۰۰۰ گزارش شده است<sup>(۴)</sup>. تعیین میزان شیوع واقعی این آلودگی کار بسیار مشکلی می‌باشد. علت این امر، ناشی از سیستم‌های نظارتی متفاوت در تهیه واحدهای پلاکتی، هم چنین روش‌های مورد استفاده در غربالگری واحدهای پلاکتی از نظر آلودگی باکتریایی و بالاخره شناسایی واکنش‌های مثبت ناشی از تزریق واحدهای پلاکتی آلوده به بیماران می‌باشد. همان طور که اشاره شد؛ واحدهای پلاکتی به علت شرایط خاص دمای ذخیره‌سازی‌شان، نسبت به سایر فرآورده‌ها از نظر رشد عوامل باکتریایی مستعدتر می‌باشند.

در ارتباط با منابع آلوده‌کننده باکتریایی، باید در نظر داشت که مهم‌ترین منشا آلودگی باکتریایی خون از طریق پوست بازوی اهداکننده است که به علت استریلیزاسیون ناصحیح سطح پوست بازوی وی رخ می‌دهد. در این رابطه جراحات قدیمی ناشی از خوننگیری‌های قبلی در پوست بازوی اهداکننده، می‌تواند با ممانعت از استریلیزاسیون کامل پوست در حین ضد عفونی، به عنوان یک منبع آلوده‌کننده در نظر گرفته شود<sup>(۵)</sup>. از دیگر علل می‌توان به نقص یا آسیب‌دیدگی کیسه‌ها و ظروف نگهداری، آلودگی محیط تهیه فرآورده‌ها و عوامل ناشناخته اشاره کرد. مرکز انتقال خون برای اجرای استاندارد (AABB) (۵۱۵۱) (American Associated of Blood Banks) غربالگری واحدهای پلاکتی از نظر عوامل باکتریایی، روش‌های مختلفی را به کار گرفته‌اند<sup>(۶)</sup>.

یکی از این روش‌ها که توسط سازمان غذا و داروی امریکا (FDA) مورد تایید قرار گرفته، دستگاه کشت اتوماتیک Bact/Alert (بیومریوکس - فرانسه) است. در این مطالعه سعی شده است کارآیی این سیستم را در هنگام به کارگیری کمترین مقدار عوامل مؤثر در تشخیص آلودگی باکتریایی واحدهای پلاکتی، نظیر میزان آلودگی اولیه،

آلوده شده در زمان  $T=0$ ، در حدود ۱۴ ساعت می‌باشد در حالی که این زمان جهت نمایش آلودگی در واحدهای پلاکتی آلوده شده هنگامی که زمان نمونه‌برداری  $T=24$  و  $T=48$  یا  $T=6$  (بر حسب ساعت) بوده، در حدود ۶ ساعت است. به عبارت دیگر هر چه زمان نمونه‌برداری از واحدهای پلاکتی آلوده از زمان  $T=0$  به سمت  $T=48$  (بر حسب ساعت) برود، مدت زمان نمایش آلودگی در چنین واحدهایی به شدت کاهش می‌یابد. در مقایسه دو پارامتر، زمان نمونه‌برداری و میزان نمونه برداشتی جهت نمایش آلودگی در واحدهای پلاکتی مورد نظر، میانگین زمان لازم جهت نمایش آلودگی با حجم ۲ میلی‌لیتر از واحدهای پلاکتی برداشت شده به طور مشخص کمتر از آن‌ها بود که میزان برداشت جهت نمایش آلودگی از آن‌ها  $0/5$  میلی‌لیتر بود.

در مورد باکتری اشریشیاکلی به عنوان یک ارگانیسم با رشد سریع، چنانچه غلظت اولیه آلودگی در واحدهای پلاکتی مورد نظر  $CFU/mL = 10$  باشد، نمونه‌برداری از چنین واحدهایی به میزان  $1/5$  و ۲ میلی‌لیتر در زمان‌های  $48$ ،  $T=24$ ،  $T=6$  و  $T=0$  (بر حسب ساعت) در  $\%100$  واحدها با استفاده از این دستگاه قابل نمایش می‌باشد.

در مورد استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس به عنوان یک ارگانیسم کند رشد که فلور طبیعی پوست می‌باشد، میزان رخداد آلودگی و میانگین زمان نمایش آلودگی باکتریایی با توجه به حجم نمونه برداشت شده از واحدهای پلاکتی آلوده شده به طور خلاصه در جدول ۲ آمده است.

رخداد آلودگی	زمان متوسط جهت نمایش آلودگی با توجه به زمان نمونه‌برداری مشابه با نتایج به دست آمده از باکتری اشریشیاکلی
با توجه به حجم نمونه برداشت شده به طور خلاصه در جدول ۲ آمده است.	با توجه به حجم نمونه برداشت شده به طور خلاصه در جدول ۲ آمده است.

نتایج به دست آمده در این مرحله گویای این مطلب است که با افزایش زمان نمونه‌برداری و تلقیح آن به محیط‌های کشت پلاکتی، زمان نمایش آلودگی در واحدهای پلاکتی آلوده با استفاده از دستگاه Bact/Alert کاهش می‌یابد. در مورد باکتری استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس در زمان  $T=0$  (بر حسب ساعت) چنانچه حجم برداشت شده از واحدهای پلاکتی آلوده معادل  $0/5$  و ۱ میلی‌لیتر باشد، تنها ۱۰ مورد مثبت رخ داده و در حجم ۲

زمان نمونه‌گیری جهت انجام آزمایش‌های باکتری‌شناسی برای هر باکتری به طور مشابه به ترتیب  $48$ ،  $T=24$ ،  $T=6$  و  $T=0$  (بر حسب ساعت) بود. میزان حجم برداشتی از واحدهای پلاکتی آلوده شده در زمان‌های فوق به ترتیب  $0/5$ ،  $1$  و  $2$  میلی‌لیتر تحت شرایط استریل بود. حجم‌های مذکور را به محیط کشت BPA (بیومریوکس - فرانسه) مخصوص باکتری‌های هوایی و بی‌هوایی اختیاری تلقیح کرده و سپس این محیط‌ها به مدت ۷ روز در دستگاه Bact/Alert در دمای  $37^{\circ}C$  انکوبه گردید. زمان نمایش آلودگی باکتریایی با استفاده از دستگاه Bact/Alert پس از اولین هشدار به طور خودکار ثبت گردید.

به سبب میزان رشد متفاوت باکتری‌های مورد نظر در واحدهای پلاکتی، نتایج حاصل از بررسی‌های انجام شده با باکتری‌های اشریشیاکلی و استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس به طور جداگانه مورد ارزیابی قرار گرفتند. با توجه به اهمیت سرعت تشخیص، میانگین زمان لازم جهت اولین نمایش آلودگی در واحدهای پلاکتی آلوده شده برای هر باکتری با توجه به میزان تلقیح باکتری مورد نظر و زمان نمونه‌برداری محاسبه گردید.

## یافته‌ها

در این مطالعه با توجه به انتخاب دو باکتری اشریشیاکلی و استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس به عنوان باکتری‌هایی با رشد سریع و کند، نتایج در مورد هر باکتری به طور جداگانه مورد بررسی و ارزیابی قرار گرفت (جدول ۱ و ۲).

در مورد نتایج به دست آمده از باکتری اشریشیاکلی، میزان رخداد آلودگی و میانگین زمان نمایش آلودگی باکتریایی با توجه به حجم نمونه برداشت شده از واحدهای پلاکتی آلوده شده به طور خلاصه در جدول ۱ آمده است.

در این جدول چنانچه مشخص شده است، با طولانی شدن زمان برداشت نمونه از واحدهای پلاکتی آلوده شده، زمان نمایش آلودگی در واحدهای پلاکتی کاهش می‌یابد. به عنوان مثال زمان نمایش آلودگی در واحدهای پلاکتی



زمان معادل  $53/43$  ساعت می‌باشد. با توجه به اهمیت آلودگی باکتریایی در واحدهای پلاکتی به علت شرایط خاص از جمله دمای نگهداری این واحدها در دمای محیط که به عنوان یک فاکتور مهم باعث ایجاد شرایط مناسب جهت رشد باکتری‌ها می‌گردد، شناسایی سریع این عوامل در چنین فرآورده‌هایی حائز اهمیت می‌باشد(۱۱).

در حال حاضر در مراکز انتقال خون کشور با استقرار GMP = Good Manufacturing Practice در امر تهیه پلاکت به ویژه در روش خونگیری، استفاده از کیسه‌های جانبی برای خارج ساختن  $20$  میلی‌لیتر خون ابتدای خونگیری (که احتمال آلودگی بالای دارد) و پایش آلودگی با کشت  $1\%$  از واحدهای پلاکتی، سعی شده تا آلودگی باکتریایی کنترل شود. مقایسه آمارها با  $5$  سال قبل حاکی از موفقیت‌آمیز بودن این اقدامات است.

هم چنین به لحاظ شیوع بالای آلودگی باکتریایی در واحدهای پلاکتی و با توجه به نقش باکتری‌ها در به خطر انداختن سلامت خون (به ویژه پلاکت‌ها)، ضروری است با به کارگیری روش‌های تشخیصی مناسب، سلامت این فرآورده را ارتقا بخشیم. امروزه از روش‌های تشخیصی وابسته به کشت نظری Bact/Alert می‌توان در مراکز انتقال خون استفاده نمود.

### نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که زمان نمونه‌برداری صفر و  $6$  ساعت از واحدهای پلاکتی آلود شده به میزان حداقل  $0/5$  میلی‌لیتر، جهت اطمینان از نمایش آلودگی باکتری‌هایی *E.coli* و استافیلولکوس اپیدرمیدیس، با استفاده از سیستم کشت خون نیمه خودکار، مناسب می‌باشد.

### تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله نویسنده‌گان مقاله از کارکنان کنترل کیفی پایگاه انتقال خون تهران، به دلیل همکاری در تحقیق، تشکر و قدردانی می‌نمایند.

آمده توسط هال و همکاران مشابه بود(۷).

در یک مطالعه دیگر که توسط مکدونالد و همکاران جهت ارزیابی دستگاه Bact/Alert بعد از تلقیح باکتری‌های مورد نظر به واحدهای پلاکتی در روز دوم تهیه آن‌ها با غلظت‌های  $10-100$  CFU/mL صورت گرفت، میانگین زمان نمایش آلودگی در این واحدها بین  $1/1-41/1$  ساعت تخمین زده شد. در این مطالعه از  $9$  باکتری گرم مثبت و  $5$  باکتری گرم منفی استفاده شد(۸).

گاهی با توجه به میزان کم باکتری در پلاکت‌های تازه تهیه شده (کمتر از  $10$  CFU/mL)، حداقل زمان مورد نیاز جهت نمونه‌گیری  $24$  ساعت و یا بیشتر می‌باشد تا بتوان فرصت کافی جهت رشد در اختیار باکتری‌های احتمالی در کیسه پلاکتی داده شود و بدین ترتیب از به دست آمدن نتایج منفی کاذب جلوگیری شود(۸-۱۰).

نتایج حاصل از این تحقیق نشان می‌دهد که باکتری‌های اشریشیاکلی و استافیلولکوس اپیدرمیدیس می‌توانند به عنوان شاخص به ترتیب به میزان  $100\%$  و  $83/3\%$  در واحدهای پلاکتی آلود شده نمایش داده شوند با این فرض که نمونه‌برداری از چنین واحدهایی  $24$  ساعت پس از تلقیح آلودگی صورت گیرد. تحت این شرایط، میانگین زمان نمایش آلودگی توسط این سیستم برای استافیلولکوس اپیدرمیدیس  $31$  ساعت می‌باشد که با احتساب  $24$  ساعت پس از تهیه واحد پلاکتی، این زمان به  $55$  ساعت می‌رسد.

در مورد باکتری اشریشیاکلی به عنوان یک ارگانیسم سریع الرشد با حداقل میزان آلودگی  $10$  CFU/mL، میانگین زمان نمایش آلودگی  $10$  ساعت می‌باشد که با احتساب  $24$  ساعت پس از تهیه واحدهای پلاکتی، این زمان  $34$  ساعت می‌شود. حال اگر نمونه‌برداری  $48$  ساعت پس از تلقیح آلودگی صورت گیرد، باکتری‌های اشریشیاکلی و استافیلولکوس اپیدرمیدیس به طور  $100\%$  توسط این سیستم قابل نمایش می‌باشند. تحت این شرایط میانگین زمان لازم جهت نمایش استافیلولکوس اپیدرمیدیس  $9/2$  ساعت بود که با احتساب  $48$  ساعت از زمان نمونه‌برداری، این زمان معادل  $57/2$  ساعت می‌باشد و برای اشریشیاکلی این زمان  $5/43$  ساعت بود که با احتساب  $48$  ساعت، این

**References :**

- 1- Védy D, Robert D, Gasparini D, Canellini G, Waldvogel S, Tissot JD. Bacterial contamination of platelet concentrates: pathogen detection and inactivation methods. *Hematol Rev* 2009; 1(1): e5.
- 2- Hillyer CD, Josephson CD, Blajchman MA, Vostal JG, Epstein JS, Goodman JL. Bacterial contamination of blood components: risks, strategies, and regulation: joint ASH and AABB educational session in transfusion medicine. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2003: 575-89.
- 3- Störmer M, Cassens U, Kleesiek K, Dreier J. Detection of bacteria in platelet concentrates prepared from spiked single donations using cultural and molecular genetic methods. *Transfus Med* 2007; 17(1): 61-70.
- 4- Riedel S, Siwek G, Beekmann SE, Richter SS, Raife T, Doern GV. Comparison of the BACTEC 9240 and BacT/Alert blood culture systems for detection of bacterial contamination in platelet concentrates. *J Clin Microbiol* 2006; 44(6): 2262-4.
- 5- Brecher ME, Hay SN. Bacterial contamination of blood components. *Clin Microbiol Rev* 2005; 18(1): 195-204.
- 6- Mastronardi C, Perkins H, Derksen P, denAdmirant M, Ramírez-Arcos S. Evaluation of the BacT/ALERT 3D system for the implementation of in-house quality control sterility testing at Canadian Blood Services. *Clin Chem Lab Med* 2010; 48(8): 1179-87.
- 7- Wagner SJ, Robinette D. Evaluation of an automated microbiologic blood culture device for detection of bacteria in platelet components. *Transfusion* 1998; 38(7): 674-9.
- 8- McDonald CP, Rogers A, Cox M, Smith R, Roy A, Robbins S, et al. Evaluation of the 3D Bact/ALERT automated culture system for the detection of microbial contamination of platelet concentrates. *Transfus Med* 2002; 12(5): 303-9.
- 9- Brecher ME, Means N, Jere CS, Heath D, Rothenberg S, Stutzman LC. Evaluation of an automated culture system for detecting bacterial contamination of platelets: an analysis with 15 contaminating organisms. *Transfusion* 2001; 41(4): 477-82.
- 10- Wagner SJ. Transfusion-transmitted bacterial infection: risks, sources and interventions. *Vox Sang* 2004; 86(3): 157-63.
- 11- Schmidt M, Karakassopoulos A, Burkhardt J, Deitenbeck R, Asmus J, Müller TH, et al. Comparison of three bacterial detection methods under routine conditions. *Vox Sang* 2007; 92(1): 15-21.

*Original Article*

## Evaluation of an automated microbiological blood culture for detection of bacteria in platelet units

**Dabirmoghadam A.<sup>1</sup>, Razjou F.<sup>1</sup>, Kokab Sayar E.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Blood Transfusion Research Center, High Institute for Research and Education in Transfusion Medicine, Tehran, Iran

### **Abstract**

#### **Background and Objectives**

Bacterial contamination of platelet units is an important cause of transfusion-associated morbidity and mortality. Automated bacterial blood culturing system satisfies many of the requirements of an ideal test. In this research we investigated several factors affecting detection by automated culture of bacteria in platelet units.

#### **Materials and Methods**

In this study *E.coli* was selected to model a fast growing organism and *Staphylococci epidermidis* was used to model a slow growing organism. *Staphylococci epidermidis* and *E.coli* were inoculated into freshly prepared platelet units to yield 10 CFU/ML. At the time of inoculation t=0, t=6, t=24, and t=48 hours, 0.5, 1.0 and 2.0 ml samples of the contaminated platelet units were transferred into culture bottles.

#### **Results**

*E.coli* was detected in 100% of experiments when 0.5, 1.0 or 2.0 ml samples were taken at t=0, t=6, t=24, and t=48 hours. For *Staphylococci epidermidis* 83.3% of contaminated platelet units was detected when 0.5 or 1.0 ml samples were taken at t=0 hours and 91.6% of units was detected when 2 ml samples were taken at t=0 hours. *Staphylococci epidermidis* also was detected in 100% of units when 0.5 ,1.0, or 2 ml samples were taken at t=6, t=24, and t=48 hours.

#### **Conclusions**

The data from this preliminary evaluation suggest that sampling times of 0 and 6 hours and 0.5 ml sampling volume are suitable to provide confidence in detection of *E.coli* and *Staphylococci epidermidis* in platelet units using this culture method.

**Key words:** Platelets, *E coli*, *Staphylococcus epidermidis*

Received: 1 Nov 2011

Accepted: 7 Apr 2012

**Correspondence:** Dabirmoghadam A., MSc of Microbiology. Blood Transfusion Research Center, High Institute for Research and Education in Transfusion Medicine.  
P.O.Box: 14665-115, Tehran, Iran. Tel: (+9821) 82052180; Fax: (+9821) 8860155  
E-mail: [dabirmoghadam@yahoo.com](mailto:dabirmoghadam@yahoo.com)