

Clinical and Paraclinical Survey of Hospitalised Cases of Mucormycosis in Two Centres in Ghaemshahr and Sari during 2011-2018

Lotfollah Davoodi¹
Amir Mohammad Eskandari²
Akbar Hoseinnejad³
Bahareh Moayed Ahmadi⁴
Iman Haghani^{5,6}

¹ Assistant Professor, Department of Infectious Diseases, Antimicrobial Resistance Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

² Medical Student, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

³ Student Research Committee, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran

⁴ General Practitioner, Sari Health Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Mazandaran, Iran

⁵ Assistant Professor, Invasive Fungi Research Center, Communicable Diseases Institute, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

⁶ Department of Medical Mycology, School of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Mazandaran, Iran

(Received September 9, 2023; Accepted October 28, 2023)

Abstract

Background and purpose: Zygomycosis (mucormycosis) is a rare fungal infection with high morbidity and mortality. This study evaluated mucormycosis's clinical and paraclinical features in patients admitted to Buali Hospital in Sari & Razi Hospital in Ghaemshahr, Mazandaran Province, Iran.

Materials and methods: This retrospective and cross-sectional study reviewed the patients' files with proven or probable mucormycosis admitted to Buali & Razi hospitals from 20 April 2011 to 20 April 2018. The Student's T-test and Fisher's exact test were performed for data analysis using SPSS version 27 software. $P \leq 0.05$ was considered as a significant value.

Results: Out of 33 patients studied, 18 (54.55%) were female and 15 (45.45%) were male. The average age of the patients was 48.84 years. Among the signs and symptoms of the disease, most cases were related to headache. Diabetes was the most common underlying disease in these patients 28 (93.3%). The mortality rate in these patients was 48.48%, of which 25% related to mucormycosis. The genus *Mucor* and *Rhizopus* were the most common agents isolated in 9 cases of positive cultures.

Conclusion: Results indicate that people with diabetes are more susceptible to mucormycosis than others, and that control and reduction of diabetes in the community can significantly reduce the incidence of mucormycosis. surgery combined with timely medical treatment also has the highest survival rate.

Keywords: Amphotericin B, Diabetes, Mucormycosis

J Mazandaran Univ Med Sci 2023; 33 (Supple 1): 180-191 (Persian).

Corresponding Author: Iman Haghani- Invasive Fungi Research Center, Communicable Diseases Institute, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran (E-mail: imaan.haghani@gmail.com) and Akbar Hoseinnejad- Student Research Committee, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran. (akbarhosseinnejad@gmail.com)

بررسی کلینیکی و پاراکلینیکی موارد موکورمایکوزیس بستری در مراکز آموزشی درمانی رازی قائم شهر و بوعلی ساری طی سال های 1390-1397

لطف اله داودی¹
امیرمحمد اسکندری²
اکبر حسین نژاد³
بهاره مؤید احمدی⁴
ایمان حقانی^{5,6}

چکیده

سابقه و هدف: زیگومایکوزیس (موکورمایکوزیس) یک عفونت قارچی نادر با عوارض و مرگومیر بالا است. این مطالعه با هدف بررسی بالینی و پاراکلینیکی موکورمایکوزیس در بیماران بستری در بیمارستان های بوعلی ساری و رازی قائم شهر، استان مازندران، ایران انجام شد.

مواد و روش ها: در مطالعه توصیفی - مقطعی و گذشته نگر حاضر، پرونده بیمارانی با موکورمایکوزیس اثبات شده یا احتمالی که از 20 مهر 1390 تا 20 آبان 1397 در بیمارستان های بوعلی ساری و رازی قائم شهر بستری شده بودند، بررسی شد. برای تجزیه و تحلیل داده ها از آزمون های T Student و آزمون دقیق فیشر و نرم افزار SPSS نسخه 27 استفاده شد. $p \leq 0/05$ به عنوان سطح معنی داری در نظر گرفته شد.

یافته ها: از 33 بیمار مورد بررسی 18 بیمار (54/55 درصد) زن و 15 بیمار (45/45 درصد) مرد بودند. هم چنین میانگین سنی بیماران 48/8 بود. در بین علائم و نشانه های بیماری بیشترین موارد مربوط به سردرد بود. دیابت با 93/3 درصد (28 نفر) شایع ترین بیماری زمینه ای را در این بیماران تشکیل می داد. میزان مرگومیر بیماران 48/48 درصد بود که 25 درصد موارد مربوط به موکورمایکوزیس می شد. دو جنس *Mucor* و *Rhizopus* شایع ترین عوامل جدا شده در نه مورد کشت مثبت بودند.

استنتاج: با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه، افراد دیابتی بیش تر از دیگران در معرض خطر موکورمایکوزیس قرار دارند و با کنترل و کاهش دیابت در افراد جامعه می توان میزان بروز موکورمایکوزیس را به طور قابل توجهی کاهش داد. هم چنین درمان جراحی، در کنار درمان به موقع دارویی، باعث بیشترین میزان بقا می شود.

واژه های کلیدی: موکورمایکوزیس، آمفو تریسین ب، دیابت

مقدمه

موکورمایکوزیس یکی از عفونت های قارچی فرصت طلب نادر و در اغلب موارد تهاجمی است. عوامل ایجاد کننده آن از راسته موکورال ها (*Mucorales*) به ویژه جنس های *Rhizopus*، *Lichtheimia*، لکتیمیا

E-mail: imaan.haghani@gmail.com
E-mail: akbarhosseinnnejad@gmail.com

مؤلف مسئول: ایمان حقانی - ساری: 17 جاده فرح آباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم، مرکز تحقیقات قارچ های تهاجمی و اکبر حسین نژاد - اهواز: خیابان گلستان، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپوراهواز.

1. استادیار، گروه عفونی، مرکز تحقیقات مقاومت های میکروبی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
 2. دانشجوی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
 3. کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور، اهواز، ایران
 4. پزشک عمومی، مرکز بهداشت ساری، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
 5. استادیار، مرکز تحقیقات قارچ های تهاجمی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
 6. استادیار، گروه قارچ شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
- © تاریخ دریافت: 1402/6/18 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: 1402/7/9 تاریخ تصویب: 1402/8/6

و موکور (*Mucor*) هستند که از میان این عوامل رازیوپوس به عنوان شایع‌ترین آن‌ها به حساب می‌آید (3-1). این بیماری می‌تواند به اشکال مختلفی مانند رینوسربرال، ریوی، جلدی، گوارشی و منتشره دیده شود. فرم رینوسربرال شایع‌ترین شکل این بیماری است که بیش‌تر در افراد با دیابت کنترل نشده دیده می‌شود، همچنین فرم گوارشی نیز نادرترین فرم این بیماری است که اغلب در نوزادان گزارش گردیده است (4،5). میزان مرگ‌ومیر بیماری با توجه به ناحیه درگیر و نیز بیماری زمینه‌ای افراد، بین 40 تا 80 درصد متغیر است. عواملی مانند دیابت میلوس، بدخیمی‌های خونی، مصرف کورتیکواستروئیدها و داروهای سرکوب‌کننده سیستم ایمنی، پیوند عضو، نوتروپنی، نقص سیستم ایمنی اولیه، تروما و همچنین در مواردی استعمال داخل وریدی مواد مخدر می‌توانند افراد را مستعد ابتلا به این بیماری تهاجمی کنند (6،7). افرادی که از سیستم ایمنی سالمی برخوردار هستند و فاقد عوامل مستعد کننده ذکر شده در بالا هستند نیز در مواردی می‌توانند دچار این بیماری شوند (8،9). میزان بروز موکورمایکوزیس در سطح جهان از 0/005 تا 1/7 در هر میلیون نفر متغیر است (4). همچنین با توجه به مطالعات محدودی که در ایران انجام گرفته، میزان بروز این بیماری به‌طور دقیق مشخص نیست. مطالعه واعظی و همکارانش که موارد گزارش شده موکورمایکوزیس در ایران از سال 1368 تا 1394 را بررسی کردند، نشان می‌دهد که میزان بروز این بیماری در سال‌های بین 1384 تا 1388 افزایش قابل توجهی داشته است؛ به‌طوری که از 98 مورد موکورمایکوزیس بررسی شده 34 مورد (39/69 درصد) مربوط به این بازه زمانی پنج ساله است (10).

مطالعات گوناگونی که در نقاط مختلف دنیا انجام شده حاکی از آن است که افراد مبتلا به دیابت به‌ویژه دیابت کنترل نشده بیش‌تر از دیگران به این بیماری دچار می‌شوند (11). شروع و روند بیماری موکورمایکوزیس سریع بوده و تشخیص دیرنگام آن می‌تواند مشکلات

فراوانی را به دنبال داشته باشد. تشخیص بر اساس علائم بالینی، وجود بیماری زمینه‌ای، آزمایش‌های هیستوپاتولوژی و نیز کشت است. با استفاده از آزمایش هیستوپاتولوژی می‌توان این بیماری را به صورت قطعی تشخیص داد؛ ولی ذکر این نکته ضروری است که با وجود تهاجمی بودن بیماری، کشت ارزشی ندارد و اغلب اوقات منفی خواهد شد (12-14).

توانایی درمان مؤثر موکورمایکوزیس به در دسترس بودن تکنیک‌های جراحی و داروهای ضد قارچی بستگی دارد. موارد موکورمایکوزیس رینوسربرال را که شایع‌ترین فرم این بیماری است، می‌توان با جراحی و اصلاح اختلالات متابولیک و همچنین مصرف داروهای ضد قارچی درمان کرد. درمان جراحی شامل برداشت بافته‌های مرده تمام مناطق درگیر از جمله سینوس‌ها و چشم است. درمان ضدقارچی شامل تجویز آمفوتریسین ب (*Amphotericin B*) با دوز 1 mg/kg تا دوز توتال 1 gr است که با توجه به عوارض کلیوی که این دارو ایجاد می‌کند، وضعیت کارکرد کلیه باید به صورت مرتب کنترل شود (15-17). کسپوفانژین (*Caspofungin*)، پوساکونازول (*Posaconazole*)، کتوکونازول (*Ketoconazole*) دیگر داروهایی هستند که جهت درمان این بیماران به کار می‌روند (18).

همچنین می‌توان با تجویز دز پایین هپارین به صورت انفوزیون داخل وریدی احتمال فلیت حاصل از مصرف داروی آمفوتریسین ب (*Amphotericin B*) را به حداقل رساند (18، 19). با توجه به مطالب ذکر شده، اهمیت بالینی موکورمایکوزیس و نیز وجود اطلاعات محدود در این زمینه، مطالعه حاضر با هدف بررسی بیماران مبتلا به موکورمایکوزیس بستری در بیمارستان بوعلی ساری و بیمارستان رازی قائم‌شهر از نظر تغییرات کلینیکی و پاراکلینیکی در طول دوره بیماری، روند بهبودی یا وخیم‌تر شدن بیماری در آن‌ها و نیز بررسی تغییرات ضایعات ایجاد شده و تظاهرات بالینی در آن‌ها، انجام شد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه توصیفی - مقطعی و گذشته‌نگر در بیماران بستری در بیمارستان‌های بوعلی شهر ساری و رازی قائم‌شهر، طی یک دوره هفت ساله و از 20 مهر 1390 تا 20 آبان 1397 انجام شد. بیماران بستری شده در بیمارستان در طول این هفت سال، در صورت داشتن شرایط، وارد مطالعه شدند. معیارهای ورود به مطالعه، آزمایش‌های پاتولوژی (اسمیر یا هیستوپاتولوژی) و نیز نشانه‌های بالینی منطبق با موکورمایکوزیس رینو اوربیتوسربرال بود. افراد مبتلا به موکورمایکوزیس که به دلایل مختلفی اقدامات تشخیصی و درمانی برای آن‌ها انجام نشده بود و بیمارستان را ترک کرده بودند، از مطالعه خارج شدند. هم‌چنین تکمیل نبودن دقیق پرونده بیماران یکی دیگر از معیارهای خروج این مطالعه بود. اطلاعات بیماران از دو سیستم Hospital Information Systems (HIS) بیماران بستری بخش‌های گوش و حلق و بینی، داخلی، جراحی و نیز دفاتر ثبت موجود در بخش‌های پاتولوژی و قارچ‌شناسی آزمایشگاه‌های این دو بیمارستان به دست آمد و هم‌چنین در صورت وجود آزمایش‌های تخصصی برای برخی از بیماران اطلاعات تکمیلی از آزمایشگاه‌های دیگر شهرستان ساری و قائم‌شهر استان مازندران جمع‌آوری شد. شماره پرونده همه بیماران بستری که تشخیص اولیه یا تشخیص نهایی آن‌ها موکورمایکوزیس بود یادداشت و اطلاعات مربوط به این بیماران با مراجعه به مراکز بایگانی پرونده‌ها در بیمارستان، استخراج شد. هم‌چنین همه موارد بر اساس معیارهای EORTC/MSG به سه گروه قطعی (رؤیت کردن ارگانیزم در اسمیر پاتولوژی بافت آسیب‌دیده)، محتمل (وجود فاکتور میزبان و فاکتور کلینیکی و فاکتور میکروبیولوژی به صورت کشت قارچ) و ممکن (وجود فاکتور میزبان و فاکتور کلینیکی) تقسیم شدند (20). معیارهای تشخیصی بالینی و درمانی بیماران مدنظر در

چک‌لیست جمع‌آوری گردید و پیگیری‌ها به صورت دو ماهه و شش ماهه با استفاده از تماس تلفنی انجام شد.

تعریف عملیاتی موکورمایکوزیس

موکورمایکوزیس یکی از عفونت‌های فرصت‌طلب قارچی است که نادر و در اغلب موارد تهاجمی است. عوامل ایجاد کننده آن از راسته موکورال‌ها هستند. بر اساس معیارهای EORTC/MSG تشخیص عفونت‌های تهاجمی قارچی از جمله موکورمایکوزیس در سه سطح ثابت شده (Proven)، محتمل (Probable) و ممکن (Possible) طبقه‌بندی می‌شوند. در موارد عفونت‌های قارچی اثبات شده، مشاهده عوامل قارچی در مقاطع بافتی (یافته‌های هیستوپاتولوژیک) و کشت مثبت از نمونه بافتی، معیار تشخیصی است. در مقابل، عفونت‌های قارچی تهاجمی احتمالی و ممکنه وابسته به این سه معیار اصلی هستند: شرایط میزبان، علائم و نشانه‌های بالینی مطابق با موجودیت بیماری و شواهد قارچ‌شناسی (که شامل کشت، آنالیز میکروسکوپی و هم‌چنین آزمایش‌های غیرمستقیم مانند تشخیص آنتی‌ژن است) (21).

آنالیزهای آماری

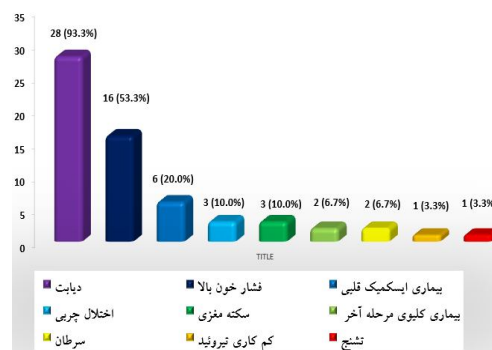
جهت بررسی روابط بین متغیرهای پیوسته و نیز متغیرهای طبقه‌بندی شده به ترتیب از آزمون‌های T Student و آزمون دقیق فیشر با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه 27 استفاده شد. چگونگی محاسبه حجم نمونه نیز به صورت سرشماری پرونده‌های دارای معیارهای ورود به مطالعه بود. $p \leq 0/05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

ملاحظات اخلاقی

این طرح دارای کد اخلاق به شماره IR.MAZUMS.REC.1398.1090 است. نویسندگان اعلام می‌دارند که در این پژوهش تمامی اصول اخلاقی مرتبط از جمله محرمانه بودن پرسش‌نامه‌ها و اسامی بیماران رعایت شده است.

یافته‌ها

در مجموع 33 مورد موکرومایکوزیس در مدت هفت سال از 1390 تا 1397 شناسایی شد (جدول شماره 2). میانگین سنی این افراد $48/84 \pm 10/41$ سال با حداقل سن 29 و حداکثر سن 75 سال بود. از 33 فرد مورد مطالعه، 15 نفر (45/45 درصد) مرد و 18 نفر (54/55 درصد) زن بودند. در طول این هفت سال بروز سالانه موکرومایکوزیس روند افزایشی داشته است به طوری که این بیماری از سه مورد در سال 1390 به شش مورد در سال 1397 افزایش پیدا کرده است. همه این بیماران دارای شرایط زمینه‌ای بودند که در این میان بیماری دیابت با 28 مورد (93/3 درصد) و فشارخون بالا با 16 مورد (53/3 درصد) بیش‌ترین درصد بیماری‌های زمینه‌ای در این افراد را به خود اختصاص داده بودند. بیماری‌های زمینه‌ای در نمودار شماره 1 با جزئیات آمده است.



نمودار شماره 1: میزان فراوانی بیماری‌های زمینه‌ای در 33 بیمار مبتلا به موکرومایکوزیس

28 نفر (84/85 درصد) از 33 بیمار، متأهل بودند که به طور معنی داری فراوانی بیش‌تری نسبت به افراد مجرد داشتند ($P < 0/001$). از 28 بیمار مبتلا به دیابت 10 نفر دارای دیابت کنترل نشده به عنوان تنها عامل خطر برای ابتلا به موکرومایکوزیس بودند. هم‌چنین در سه مورد از این افراد کتواسیدوز دیابتی وجود داشت. در 16 مورد از این بیماران فشارخون بالای 16 و در شش مورد نیز بیماری ایسکمیک قلبی دیده شد. دو مورد از

بیماران مبتلا به سرطان بودند که هر دو بیمار شیمی‌درمانی می‌شدند. دو مورد از بیماران دارای بیماری کلیوی مرحله آخر (ESRD) بودند که هر دو نفر آن‌ها دیالیز می‌شدند. سیروز کبدی فقط در یکی از این بیماران مشاهده شد. دیس لیپیدمی در سه بیمار مشاهده شد به طوری که کلسترول در دو بیمار بالای 500 و در دیگری بالای 700 بود. هم‌چنین سه نفر از این بیماران دچار سکته مغزی (CVA) شده بودند. علائم چشمی و نیز سردرد به ترتیب با 78/7 درصد و 51/5 درصد بیش‌ترین درصد علائم موکرومایکوزیس را در این افراد به خود اختصاص داده بودند (جدول شماره 1). جهت درمان و پیشگیری ضدقارچی به همه بیماران آمفوتریسین ب (Amphotericin B) تجویز شده بود که این دارو را سه مورد از بیماران به صورت داخل رگی، چهار مورد به صورت لیپوزمال و 26 مورد نیز به صورت قرص دریافت کرده بودند. دوز درمانی برای این افراد mg/kg 0/2 که اغلب جهت جلوگیری از ایجاد حساسیت در این افراد 50 میلی گرم پرومتازین (Promethazine) و نیز شش میلی گرم دکسامتازون (Dexamethasone) به صورت وریدی دریافت کرده بودند.

جدول شماره 1: میزان فراوانی علائم بالینی در 33 بیمار مورد مطالعه

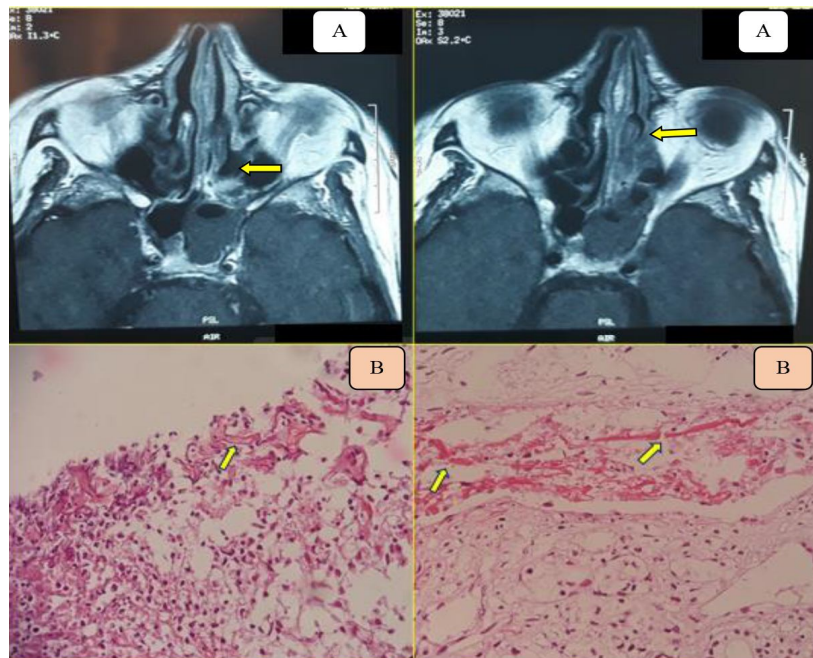
علائم بالینی	تعداد (درصد)
علائم چشمی	26 (78/7)
سردرد	17 (51/5)
نکروز	14 (42/4)
علائم صورت	13 (39/3)
تب	10 (30/3)
علائم CNS	7 (21/2)
ترشحات بینی	6 (18/1)
خون‌دماغ شدن	4 (12/1)
گرفتگی بینی	3 (9)
علائم شنوایی	2 (6)

دیگر مواردی که برای درمان این افراد تجویز شده بودند، شامل پنج مورد پوساکونازول (Posaconazole) و چهار مورد کسپوفانژین (Caspofungine) بود که همراه آمفوتریسین ب (Amphotericin B) تجویز شده بود. درمان 10 مورد فقط با داروهای ضدقارچی بوده و نیز برای درمان 23 مورد همراه داروهای ضدقارچی

یک مورد رازوپوس آریزوس (*Rhizopus arrhizus*)، Accession number: OR594265 بود که توسط روش مولکولی PCR به صورت دقیق شناسایی شدند. در 24 مورد دیگر عامل موکورمایکوزیس به دلیل منفی شدن کشت به صورت دقیق شناسایی نشد. شایع ترین اشکال بالینی موکورمایکوزیس در این افراد به ترتیب شامل 12 مورد رینوسینوسال (Rhinosinusal)، هفت مورد رینواریتال (Rhino-orbital)، چهار مورد رینواریتوسربرال (Rhino-orbito-cerebral)، سه مورد رینوسربرال (Rhino-cerebral)، سه مورد ماکسیلا فاسیال (Maxillofacial)، دو مورد ریوی (Pulmonary) و نیز دو مورد فرم منتشره (Disseminated) بود. بررسی پرونده این بیماران نشان داد هفت مورد از آنها دارای MRI orbit، شش مورد CT sinuses+MRI orbit، 10 مورد CT sinuses، دو مورد فقط CT chest و نیز یک مورد هر دو سی تی اسکن chest sinuses+MRI orbit داشت و هم چنین هشت مورد از آنها فاقد یافته های رادیولوژیک بودند (جدول شماره 2 و تصویر شماره 1).

تجویز شده، عمل جراحی هم صورت گرفته بود. بر اساس اطلاعات گرفته شده از آزمایشگاه مرکزی بیمارستان و نیز آزمایشگاه های خارج از بیمارستان که بیماران مورد بررسی به آنها مراجعه کرده بودند، کشت قارچی برای نه مورد از بیماران مثبت گزارش شده بود که پنج مورد از آنها هم زمان با کشت قارچی مثبت، آزمایش هیستوپاتولوژی (از نظر دیدن هایف های پهن و بدون دیواره گونه های موکورال) آنها نیز مثبت شده بود. 24 مورد نیز فقط از نظر هیستوپاتولوژی مثبت تشخیص داده شدند (تصویر شماره 1).

عامل ایجاد کننده موکورمایکوزیس توسط روش های میکروسکوپی و ماکروسکوپی در سه مورد گونه های موکور (*Mucor*)، یک مورد گونه های لکتمیا (*Lichtheimia*)، دو مورد گونه های موکورال تشخیص داده شده بودند. هم چنین عامل ایجاد کننده موکورمایکوزیس در سه بیمار، دو مورد گونه رازوپوس میکروسپوروس (*Rhizopus microspores*)، Accession numbers: OR594248, OR594247 و



تصویر شماره 1: A: تصویر سی تی اسکن که تیرگی کامل سینوس فرونتال، اتموئید و فک بالا را نشان می دهد. B: بررسی هیستوپاتولوژیک که هیف های بدون تیغه میانی و پهن را نشان می دهد (رنگ آمیزی H&E، بزرگنمایی: x100).

جدول شماره 2. مشخصات کامل 33 بیمار مبتلا به موکورمایکوزیس

بیمار	سال	سن	جنس	بیماری های زمینه ای	تجویز موکورمایکوزیس	کشت	هیستوپاتولوژی	گونه های جداسازی شده	یافته های رادیولوژیک	درمان	پایند
1	1390	38	زن	دیابت-فشارخون بالا	ریتواریتال	منفی	مثبت	نامشخص	نادر	آمفوتریسین ب+ جراحی ارییتال	مرگ
2	1390	31	زن	دیابت- اختلال چربی- سکه مغزی	ریتواریتال	مثبت	مثبت	موکور	MRI orbit	آمفوتریسین ب+ جراحی ارییتال	مرگ
3	1390	29	زن	دیابت- فشارخون بالا- بیماری ایسکمیک قلبی	ریتواریتال	منفی	مثبت	نامشخص	CT sinuses+MRI orbit	آمفوتریسین ب+ جراحی	حیات
4	1391	50	مرد	دیابت- فشارخون بالا- بیماری ایسکمیک قلبی	ریتواریتال	منفی	مثبت	نامشخص	نادر	آمفوتریسین ب+ جراحی	حیات
5	1391	58	زن	دیابت- بیماری کلیوی مرحله آخر	ریتواریتال	منفی	مثبت	نامشخص	CT sinuses+MRI orbit	آمفوتریسین ب+ جراحی ارییتال	حیات
6	1391	37	مرد	اختلال چربی- سرطان	ریتواریتال	منفی	مثبت	نامشخص	MRI orbit	آمفوتریسین ب	مرگ
7	1391	48	زن	دیابت- بیماری کلیوی مرحله آخر	ریتواریتال	منفی	مثبت	نامشخص	MRI orbit	آمفوتریسین ب+ جراحی	مرگ
8	1391	41	زن	دیابت- فشارخون بالا- سیروز کبدی	ماکیلاپاسیل	مثبت	مثبت	موکور	CT sinuses	آمفوتریسین ب+ جراحی	حیات
9	1392	52	مرد	دیابت	روی	منفی	مثبت	نامشخص	CT chest	آمفوتریسین ب وریدی	مرگ
10	1392	61	مرد	اختلال چربی	ریتواریتال	منفی	مثبت	نامشخص	CT sinuses	آمفوتریسین ب+ جراحی	حیات
11	1393	39	مرد	دیابت- فشارخون بالا	ریتواریتال	منفی	مثبت	نامشخص	CT sinuses	آمفوتریسین ب+ جراحی ارییتال	حیات
12	1393	70	مرد	دیابت- فشارخون بالا- بیماری ایسکمیک قلبی	ریتواریتال	منفی	مثبت	نامشخص	CT sinuses+MRI orbit	آمفوتریسین ب+ جراحی ارییتال	حیات
13	1393	54	زن	دیابت- فشارخون بالا	مستشره	مثبت	مثبت	لکمی	CT sinuses+MRI orbit-CT chest	ویدی آمفوتریسین ب	مرگ
14	1393	48	زن	دیابت- اختلال چربی	ریتواریتال	منفی	مثبت	نامشخص	CT sinuses	آمفوتریسین ب+ جراحی	حیات
15	1394	42	زن	دیابت	ریتواریتال	مثبت	مثبت	ریتواریتال	نادر	آمفوتریسین ب	حیات
16	1394	49	مرد	دیابت- فشارخون بالا	مستشره	منفی	مثبت	نامشخص	نادر	آمفوتریسین ب+ جراحی	مرگ
17	1394	65	زن	دیابت- فشارخون بالا	ماکیلاپاسیل	منفی	مثبت	نامشخص	CT sinuses	آمفوتریسین ب+ جراحی	حیات
18	1394	66	زن	دیابت- فشارخون بالا	ریتواریتال	منفی	مثبت	نامشخص	CT sinuses	آمفوتریسین ب+ جراحی ارییتال	حیات
19	1395	37	مرد	دیابت	ریتواریتال	منفی	مثبت	نامشخص	MRI orbit	آمفوتریسین ب+ جراحی ارییتال	مرگ
20	1395	35	زن	دیابت- بیماری ایسکمیک قلبی	ریتواریتال	مثبت	مثبت	ریتواریتال	CT sinuses+MRI orbit	آمفوتریسین ب	مرگ
21	1395	40	مرد	سرطان	ریتواریتال	مثبت	مثبت	موکور	CT sinuses	آمفوتریسین ب+ جراحی ارییتال	مرگ
22	1395	75	زن	اختلال چربی- کم کار تیروئید	ریتواریتال	مثبت	مثبت	گونه های موکور	MRI orbit	آمفوتریسین ب+ کپوفازول+ پوساکونازول	مرگ
23	1395	41	زن	دیابت- فشارخون بالا- بیماری ایسکمیک قلبی	ریتواریتال	منفی	مثبت	نامشخص	CT sinuses	آمفوتریسین ب	حیات
24	1396	49	زن	دیابت- فشارخون بالا	ریتواریتال	منفی	مثبت	نامشخص	نادر	آمفوتریسین ب+ جراحی ارییتال	حیات
25	1396	52	مرد	دیابت- فشارخون بالا- بیماری ایسکمیک قلبی	ریتواریتال	مثبت	مثبت	گونه های موکور	MRI orbit	لیوزول آمفوتریسین ب+ جراحی ارییتال	مرگ
26	1396	63	مرد	دیابت- فشارخون بالا	روی	منفی	مثبت	نامشخص	CT chest	ویدی آمفوتریسین ب	مرگ
27	1396	57	زن	دیابت- فشارخون بالا	ریتواریتال	منفی	مثبت	نامشخص	نادر	آمفوتریسین ب+ پوساکونازول+ جراحی ارییتال	حیات
28	1397	37	مرد	دیابت- اختلال چربی	ریتواریتال	منفی	مثبت	نامشخص	MRI orbit	لیوزول آمفوتریسین ب+ جراحی ارییتال	مرگ
29	1397	42	زن	دیابت	ریتواریتال	منفی	مثبت	نامشخص	نامشخص	آمفوتریسین ب+ کپوفازول+ پوساکونازول+ جراحی ارییتال	مرگ
30	1397	37	مرد	فشارخون بالا- سکه مغزی	ریتواریتال	مثبت	مثبت	ریتواریتال	CT sinuses+MRI orbit	لیوزول آمفوتریسین ب+ جراحی ارییتال	حیات
31	1397	68	مرد	دیابت- بیماری کلیوی مرحله آخر	ریتواریتال	منفی	مثبت	نامشخص	CT sinuses	آمفوتریسین ب+ کپوفازول+ پوساکونازول	حیات
32	1397	52	زن	دیابت- فشارخون بالا	ماکیلاپاسیل	منفی	مثبت	نامشخص	CT sinuses	لیوزول آمفوتریسین ب+ جراحی	مرگ
33	1397	49	مرد	دیابت	ریتواریتال	منفی	مثبت	نامشخص	نادر	آمفوتریسین ب+ کپوفازول+ پوساکونازول	حیات

در مطالعه حاضر ویژگی های زمینه ای 33 بیمار مبتلا به موکورمایکوزیس همراه با روش های تشخیصی و درمانی استفاده شده برای آن ها مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس آزمون های آماری بین بیماری های زمینه ای به ویژه دیابت و میزان ایجاد موکورمایکوزیس رابطه معنی داری وجود داشت. به طوری که افراد دیابتی و به دنبال آن افراد دارای فشارخون بالا بیشترین موارد موکورمایکوزیس را به خود اختصاص داده بودند. در مطالعه Jeong و همکاران (استرالیا-2019) (23)، مطالعه Corzo-Leon و همکاران (مکزیک-2018) (24)، Chakrabarti و همکاران (هند-2009) (25)، Lanternier و همکاران (فرانسه-2007 تا 2005) (26)، Skiada و همکاران (27) که در 15 کشور اروپایی انجام شد، بیماری دیابت را به عنوان شایع ترین بیماری زمینه ای در بین بیماران موکورمایکوزیس معرفی کردند.

قبیش از نیمی از بیماران (51/5 درصد) پس از درمان های رایج که شامل تجویز آمفوتریسین ب (Amphotericin B) و جراحی (12 بیمار)، تجویز همزمان آمفوتریسین ب (Amphotericin B)، پوساکونازول (Posaconazole) و جراحی (1 بیمار)، تجویز همزمان سه داروی آنتی فونگال آمفوتریسین ب (Amphotericin B)، پوساکونازول (Posaconazole) و کسپوفانژین (Caspofungine) (دو بیمار) و تجویز آمفوتریسین ب به تنهایی (Amphotericin B) (دو بیمار)، زنده ماندند.

بحث

موکورمایکوزیس به عنوان یک بیماری قارچی فرصت طلب که در شرایط خاص دارای مرگومیر بالایی است در دو دهه اخیر اهمیت فراوانی یافته است (22).

در مطالعه حاضر نیز بیشترین موارد موکورمایکوزیس مربوط به افراد دیابتی بود که نشان‌دهنده همسو بودن این مطالعه با مطالعات ذکر شده است. قابل ذکر است که در مطالعه Lanternier و همکاران (26)، Skiada و همکاران (27) بدخیمی خونی بعد از دیابت بیشترین موارد موکورمایکوزیس را به خود اختصاص داده بود ولی در مطالعه حاضر، فشارخون بالا دومین عامل تشدیدکننده موکورمایکوزیس بود و تنها دو بیمار مبتلا به سرطان وجود داشت. در مطالعه حاضر، اختلاف معنی‌داری از نظر آماری بین علائم مختلفی که بیماران مبتلا به موکورمایکوزیس داشتند، دیده شد. در میان این علائم، تورم دور چشم بیشترین علامت بوده و بعد از آن به ترتیب سردرد، نکروز، تورم صورت و تب شایع‌ترین علائم بودند. در مطالعه Jiang و همکاران در چین (29) 11 بیمار موکورمایکوزیس بررسی شدند که درگیری بینی، اریبت و مغز داشتند. این بیماران همه به فلج حداقل یک عصب مغزی، کاهش دید، افتادگی پلک مبتلا بودند. تب، دویینی، اکزوفتالما و ادم اطراف چشم در نه تن از بیماران دیده شد. سردرد فقط در هفت مورد گزارش شد. در مطالعه Patel و همکاران (30) 30 بیمار مبتلا به موکورمایکوزیس مورد بررسی قرار گرفتند که همه بیماران از گرفتگی یا ترشح بینی شکایت داشتند. سردرد به عنوان دومین علامت شایع در 20 نفر از این بیماران گزارش شد. 18 بیمار نیز از تورم صورت شکایت داشتند. می‌توان گفت شیوع علائم در بیماران مبتلا به موکورمایکوزیس متفاوت است؛ اما به دلیل درگیری اجزاء صورت (بینی، چشم‌ها و سینوس‌ها) در بیش‌تر موارد، علائم مربوط به آن‌ها بیش‌ترین علائم بالینی هستند که در این بیماران مشاهده می‌شود. گونه‌های موکور و ریزوپوس شایع‌ترین عوامل ایجادکننده موکورمایکوزیس در نه مورد کشت مثبت، بودند که هر کدام از سه مورد جداسازی شدند. در مطالعه Bala و همکارانش (30) که در سال 2015 انجام شد ریزوپوس آریزوس و آپوفیزوما یسس واریابیلیس

(*Apophysomyces variabilis*) به ترتیب با 37/5 و 29/2 درصد از 23 مورد کشت مثبت شایع‌ترین گونه‌های جداسازی شده بودند که با این مطالعه هم‌خوانی ندارد. با این حال در مطالعاتی که Skiada و همکاران (27) و نیز Lanternier و همکاران (26) انجام دادند گونه‌های موکور و ریزوپوس همانند مطالعه پیش‌رو بیش‌ترین عوامل جداشده از کشته‌ای مثبت را تشکیل می‌دادند. در مطالعه حاضر اختلاف معنی‌داری بین محل‌های درگیری موکورمایکوزیس وجود داشت به طوری که بیش‌ترین درگیری در ناحیه سر و صورت (12 مورد رینوسینوسال، هفت مورد رینواریتال، چهار مورد رینواریتوسربرال، سه مورد رینوسربرال و سه مورد ماکسیلاfasial) بود. برخلاف یافته‌های این مطالعه، در مطالعه Skiada و همکاران (27) و مطالعه Lanternier و همکاران (26) بیش‌ترین درصد درگیری، مربوط به ریه بوده و به دنبال آن درگیری سینوس‌ها بیش‌ترین درصد را به خود اختصاص داده بودند. در مطالعه حاضر درگیری ریوی دو مورد وجود داشت. با توجه به اینکه درگیری ریوی بیش‌تر در بیماران دچار سرکوب سیستم ایمنی اتفاق می‌افتد و در مطالعه Skiada و همکارانش و مطالعه Lanternier و همکاران بیش‌تر افراد مبتلا به موکورمایکوزیس، بیماری زمینه‌ای بدخیمی خونی داشتند و سیستم ایمنی آنان سرکوب شده بود، می‌توان دلیل بیش‌تر بودن موکورمایکوزیس ریوی را در مطالعه Skiada و Lanternier را توجیه کرد. در مطالعه Corzo-Leon و همکاران (24) و Chakrabarti و همکاران (25) و نیز El-Zein و همکاران (لبنان - 2018) (31) همانند مطالعه پیش‌رو بیش‌ترین درگیری موکورمایکوزیس مربوط به سینوس‌ها بوده است. بین 33 بیمار مبتلا به موکورمایکوزیس در مطالعه حاضر، بیش‌ترین درگیری در تصویربرداری رادیولوژیک، مربوط به سینوس‌های ماگزیلاری (16 بیمار) بوده که سینوس ماگزیلاری راست درگیری بیش‌تری (نه بیمار) داشته است. سایر سینوس‌ها و نواحی صورت با شیوع

کم‌تری در این تصاویر درگیری داشتند و از نظر آماری، این تفاوت‌ها معنی‌دار بوده‌اند. با توجه به شیوع بیش‌تر درگیری بالینی در ناحیه ارییت و ماگزیلاری سمت راست، شیوع درگیری رادیولوژیک گزارش شده، قابل انتظار است. در مطالعه Kursun و همکارانش (ترکیه - 2014) (32) از 28 بیمار مبتلا به موکورمایکوزیس که مورد بررسی قرار گرفتند، غالب بیماران به صورت معناداری درگیری سینوس‌ها را در تصاویر رادیولوژی داشتند که همسو با مطالعه حاضر بود. در مطالعه Therakathu و همکاران (هند - 2018) (33) نیز بیش‌ترین درگیری رادیولوژیک در سینوس اتموئید (86 درصد) و ماگزیلاری (79 درصد) بوده است. در مطالعات بررسی شده اختلاف بین سینوس‌های سمت راست و چپ از نظر درگیری رادیولوژیک معنادار نبوده است و به نظر می‌آید که این اختلاف در مطالعه حاضر یک یافته اتفاقی بوده و نیازمند مطالعه با حجم نمونه بیش‌تر است. در بیماران مورد بررسی دو نوع درمان دارویی و جراحی مورد استفاده قرار گرفته بود که آمفوتریسین ب (Amphotericin B) برای همه بیماران تجویز شده بود و 23 مورد همراه با دارودرمانی جراحی نیز داشتند. دیگر داروهای ضد قارچی به تعداد کم استفاده شده بودند به طوری که اختلاف بین میزان مصرف انواع داروهای ضدقارچی استفاده شده برای این بیماران از نظر آماری معنادار بود. در مطالعه Corzo-Leon و همکاران (24) برای 70 درصد از بیماران از ترکیب درمان دارویی و جراحی استفاده شده بود و درمان دارویی به تنهایی فقط در 13 درصد از بیماران، مورد استفاده قرار گرفته بود و هم‌چنین بیش‌ترین درمان دارویی مورد استفاده همانند این مطالعه آمفوتریسین ب (Amphotericin B) بود که همسو با مطالعه حاضر است. در مطالعه Skiada و همکاران (27) برای 46 درصد از بیماران فقط درمان دارویی و برای چهار درصد فقط درمان جراحی و برای 40 درصد درمان ترکیبی انجام شده است. در این مطالعه نیز همانند مطالعه حاضر

آمفوتریسین ب (Amphotericin B) بیش‌ترین استفاده را به عنوان خط اول درمان دارویی جهت درمان موکورمایکوزیس داشت. در میان درمان‌های دارویی دیگری که در این مطالعات از آن‌ها استفاده شده می‌توان به پوساکونازول (Posaconazole) و وریکونازول (Voriconazole) و کسپوفانژین (Caspofungine) اشاره کرد که در ترکیب با آمفوتریسین ب (Amphotericin B) استفاده شده‌اند و در موارد بسیار کم از پوساکونازول (Posaconazole) و ایساووکونازول (Isavuconazole) به تنهایی جهت درمان بیماران استفاده کرده بودند (31، 27). با توجه به بررسی انجام شده می‌توان دریافت که دیابت یک شاخص ریسک مهم در ابتلا به موکورمایکوزیس به شمار می‌آید و در این بیماران بیش‌ترین تظاهرات بیماری مربوط به سینوس‌ها و ارییت است. هم‌چنین یافته‌های رادیولوژیک نشان می‌دهد که بیش‌ترین درگیری در سینوس‌ها به‌ویژه در سینوس ماگزیلاری است. درمان جراحی و دارویی بیش‌ترین موفقیت را به همراه دارد و موجب حفظ جان بیماران مبتلا به موکورمایکوزیس می‌شود. در پایان می‌توان گفت با تشخیص به‌موقع، برطرف کردن عوامل مساعدکننده، دبریدمان جراحی کافی و تجویز دوز توتال مناسب داروی ضد قارچی سیستمیک می‌توان تا حد زیادی از پیشرفت این بیماری جلوگیری کرد و قدم‌های مثبتی را جهت درمان و بهبودی کامل بیماران برداشت. از این‌رو داشتن درکی درست و دقیق از تظاهرات بالینی متنوع موکورمایکوزیس جهت اجرای برنامه درمانی استاندارد به‌موقع و کافی، در کاهش مدت زمان بستری بیماران در مراکز درمانی و بهبودی این بیماران مؤثر خواهد بود.

سپاسگزاری

بدین وسیله نویسندگان این مقاله از کارکنان گرامی بیمارستان رازی قایم شهر و بیمارستان بوعلی ساری سپاس‌گزاری و قدردانی می‌کنند.

References

1. Reid G, Lynch III JP, Fishbein MC, Clark NM, editors. Mucormycosis. *Semin Respir Crit Care Med* 2020; 41(1): 99-114.
2. Prakash H, Chakrabarti A. Epidemiology of mucormycosis in India. *Microorganisms* 2021; 9(3): 523.
3. Morales-Franco B, Nava-Villalba M, Medina-Guerrero EO, Sánchez-Nuño YA, Davila-Villa P, Anaya-Ambriz EJ, et al. Host-pathogen molecular factors contribute to the pathogenesis of *Rhizopus* spp. in diabetes mellitus. *Curr Trop Med Rep* 2021; 8(1): 6-17.
4. Prakash H, Chakrabarti A. Global epidemiology of Mucormycosis. *J Fungi (Basel)* 2019; 5(1): 26.
5. Bhandari J, Thada PK, Nagalli S. Rhinocerebral mucormycosis 2020.
6. Agrawal R, Yeldandi A, Savas H, Parekh ND, Lombardi PJ, Hart EM. Pulmonary mucormycosis: risk factors, radiologic findings, and pathologic correlation. *Radiographics* 2020; 40(3): 656-666.
7. Patel A, Kaur H, Xess I, Michael J, Savio J, Rudramurthy S, et al. A multicentre observational study on the epidemiology, risk factors, management and outcomes of mucormycosis in India. *Clin Microbiol Infect* 2020; 26(7): 944.e9-944.e15.
8. Desai N, Pradhan V, Chougule D, Tiwari S, Mandke C, Yadav RM, et al. Perturbations of immune landscape in COVID-19 associated mucormycosis. *Mycoses* 2023; 66(3): 226-236.
9. Haghani I, Kermani F, Shokohi T, Abastabar M, Ashrafi Khozani M, Hedayati MT. Mucormycosis: A Lethal Phenomenon in COVID-19 Patients: A Review of Diagnostic and Therapeutic Approaches. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2022;31(205):115-132 (Persian).
10. Vaezi A, Moazeni M, Rahimi MT, de Hoog S, Badali H. Mucormycosis in Iran: a systematic review. *Mycoses* 2016; 59(7): 402-415.
11. Banerjee M, Pal R, Bhadada SK. Intercepting the deadly trinity of mucormycosis, diabetes and COVID-19 in India. *Postgrad Med J* 2022; 98(e2): e108-e109.
12. Skiada A, Lass-Floerl C, Klimko N, Ibrahim A, Roilides E, Petrikos G. Challenges in the diagnosis and treatment of mucormycosis. *Med Mycol* 2018; 56(suppl_1): 93-101.
13. Skiada A, Pavleas I, Drogari-Apiranthitou M. Epidemiology and diagnosis of mucormycosis: an update. *J Fungi (Basel)* 2020; 6(4): 265.
14. Pilms B, Alanio A, Lortholary O, Lanternier F. Recent advances in the understanding and management of mucormycosis. *F1000Research* 2018; 7.
15. Brunet K, Rammaert B. Mucormycosis treatment: Recommendations, latest advances, and perspectives. *J Mycol Med* 2020; 30(3): 101007.
16. Sipsas NV, Gamaletsou MN, Anastasopoulou A, Kontoyiannis DP. Therapy of mucormycosis. *J Fungi (Basel)* 2018; 4(3): 90.
17. Chegini Z, Didehdar M, Khoshbayan A, Rajaeih S, Salehi M, Shariati A. Epidemiology, clinical features, diagnosis and treatment of cerebral mucormycosis in diabetic patients: a systematic review of case reports and case series. *Mycoses* 2020; 63(12): 1264-1282.
18. Cornely OA, Alastruey-Izquierdo A, Arenz D, Chen SCA, Dannaoui E, Hochhegger B, et al. Global guideline for the diagnosis and management of mucormycosis: an initiative

- of the European Confederation of Medical Mycology in cooperation with the Mycoses Study Group Education and Research Consortium. *Lancet Infect Dis* 2019; 19(12): e405-e421.
19. Kumar RK, Annigeri RA, Gopalakrishnan R, Kaveripattu SS, Jain N. Bilateral renal mucormycosis following COVID-19 infection: A therapeutic challenge. *Clin Nephrol Case Stud* 2022; 10: 76-81.
 20. Guegan H, Iriart X, Bounoux M-E, Berry A, Robert-Gangneux F, Gangneux J-P. Evaluation of MucorGenius® mucorales PCR assay for the diagnosis of pulmonary mucormycosis. *J Infect* 2020; 81(2): 311-317.
 21. De Pauw B, Walsh TJ, Donnelly JP, Stevens DA, Edwards JE, Calandra T, et al. Revised definitions of invasive fungal disease from the European organization for research and treatment of cancer/invasive fungal infections cooperative group and the national institute of allergy and infectious diseases mycoses study group (EORTC/MSG) consensus group. *Clin Infect Dis* 2008; 46(12): 1813-1821.
 22. Greenberg RN, Scott LJ, Vaughn HH, Ribes JA. Zygomycosis (mucormycosis): emerging clinical importance and new treatments. *Curr Opin Infect Dis* 2004; 17(6): 517-525.
 23. Jeong W, Keighley C, Wolfe R, Lee WL, Slavin M, Kong D, et al. The epidemiology and clinical manifestations of mucormycosis: a systematic review and meta-analysis of case reports. *Clin Microbiol Infect* 2019; 25(1): 26-34.
 24. Corzo-León DE, Chora-Hernández LD, Rodríguez-Zulueta AP, Walsh TJ. Diabetes mellitus as the major risk factor for mucormycosis in Mexico: Epidemiology, diagnosis, and outcomes of reported cases. *Med Mycol* 2018; 56(1): 29-43.
 25. Chakrabarti A, Chatterjee SS, Das A, Panda N, Shivaprakash MR, Kaur A, et al. Invasive zygomycosis in India: experience in a tertiary care hospital. *Postgrad Med J* 2009; 85(1009): 573-81.
 26. Lanternier F, Dannaoui E, Morizot G, Elie C, Garcia-Hermoso D, Huerre M, et al. A global analysis of mucormycosis in France: the RetroZygo Study (2005-2007). *Clin Infect Dis* 2012; 54(1): S35-43.
 27. Skiada A, Pagano L, Groll A, Zimmerli S, Dupont B, Lagrou K, et al. Zygomycosis in Europe: analysis of 230 cases accrued by the registry of the European Confederation of Medical Mycology (ECMM) Working Group on Zygomycosis between 2005 and 2007. *Clin Microbiol Infect* 2011; 17(12): 1859-67.
 28. Jiang N, Zhao G, Yang S, Lin J, Hu L, Che C, et al. A retrospective analysis of eleven cases of invasive rhino-orbito-cerebral mucormycosis presented with orbital apex syndrome initially. *BMC Ophthalmol* 2016; 16: 10.
 29. Patel K, Gugliani A, Mehta D. Managing Rhino-cerebral Mucormycosis: Institutional Experience. *Bengal Journal of Otolaryngology and Head Neck Surgery* 2019; 27(3).
 30. Bala K, Chander J, Handa U, Punia RS, Attri AK. A prospective study of mucormycosis in north India: Experience from a tertiary care hospital. *Medical Mycology* 2015; 53(3): 248-257.
 31. El Zein S, El-Sheikh J, Zakhem A, Ibrahim D, Bazarbachi A, Kanj SS. Mucormycosis in hospitalized patients at a tertiary care center in Lebanon: a case series. *Infection* 2018; 46(6): 811-821.
 32. Kursun E, Turunc T, Demiroglu YZ, Alışkan HE, Arslan AH. Evaluation of 28 cases of

mucormycosis. *Mycoses* 2015; 58(2): 82-87.
33. Therakathu J, Prabhu S, Irodi A, Sudhakar SV, Yadav VK, Rupa V. Imaging features of

rhinocerebral mucormycosis: A study of 43 patients. *The Egyptian Journal of Radiology and Nuclear Medicine* 2018; 49(2): 447-452..