

ارزیابی اعتبار تشخیصی تست سرولوژی رایت در بیماری بروسلوز

دکتر محسن سیدنوزادی^۱ - دکتر مجیدرضا عرفانیان تقوایی^۲

چکیده

زمینه و هدف: بیماری بروسلوز یکی از مهمترین بیماری‌های مشترک انسان و دام می‌باشد که انتشار گسترده جهانی داشته و در بسیاری از نقاط ایران نیز به صورت بومی وجود دارد. با توجه به این که عفونت بروسلائی دارای علائم بالینی متنوع و گمراه‌کننده است، روش‌های آزمایشگاهی ساده، ارزان و مطمئن در شناسایی عفونت‌های بروسلائی کمک شایانی می‌نماید. مطالعه حاضر با هدف ارزیابی اعتبار تست سرولوژی رایج مورد استفاده در تشخیص این بیماری (تست رایت) انجام شد.

روش تحقیق: در این مطالعه، ۳۴۰ بیمار مبتلا به بروسلوز از بین بستری‌شدگان بخش عفونی به صورت تصادفی انتخاب شدند و آزمایش سرولوژی رایت آنان مورد بررسی قرار گرفت. حساسیت تست رایت یک بار بر مبنای تیتراژ ۱/۱۶۰ و بار دیگر بر اساس تیتراژ ۱/۸۰ محاسبه گردید. برای محاسبه ویژگی‌های تست رایت، ۱۶۰ نفر از بیماران غیر بروسلوزی که برای آنها آزمایش رایت درخواست شده بود (گروه شاهد)، انتخاب شدند و ویژگی‌های تست رایت نیز بر اساس تیتراژ ۱/۱۶۰ و ۱/۸۰ محاسبه گردید.

یافته‌ها: بیماران مبتلا به بروسلوز ۵۳/۸٪ مذکر و ۴۶/۲٪ مؤنث و غیرمبتلایان به بیماری ۵۲/۷٪ مذکر و ۴۷/۳٪ مؤنث بودند. حساسیت تست رایت بر مبنای تیتراژ ۱/۸۰ و ۱/۱۶۰ به ترتیب ۹۱/۸٪ و ۸۰/۶٪ به دست آمد. ویژگی‌های تست رایت بر اساس تیتراژ ۱/۸۰ و ۱/۱۶۰ به ترتیب ۹۷/۵٪ و ۱۰۰٪ به دست آمد.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج این تحقیق، می‌توان اذعان داشت که تست رایت که به طور رایج در بررسی‌های همه‌گیر شناختی و تشخیصی مورد استفاده قرار می‌گیرد، دارای اعتبار قابل توجهی است و می‌تواند هنوز هم به عنوان تست غربالگری اولیه با تیتراژ ۱/۸۰ و تست تشخیصی با تیتراژ ۱/۱۶۰ مورد استفاده قرار گیرد. بدیهی است برای تشخیص قطعی سایر تست‌ها و در صورت ضرورت، کشت می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: بروسلوز؛ تست سرولوژی رایت؛ اعتبار؛ حساسیت؛ ویژگی

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند. ۱۳۸۸؛ ۱۶ (۳): ۲۸-۳۲

دریافت: ۱۳۸۶/۸/۹ اصلاح نهایی: ۱۳۸۷/۳/۲۸ پذیرش: ۱۳۸۷/۶/۲۶

^۱ نویسنده مسؤول؛ استاد گروه آموزشی پزشکی اجتماعی، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد
آدرس: مشهد- بیمارستان قائم (عج)- بخش پزشکی اجتماعی و بهداشت
تلفن: ۰۵۱۱-۸۴۰۰۴۹۴ پست الکترونیکی: m_snozadi@yahoo.com
^۲ دانشیار گروه آموزشی پزشکی اجتماعی، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد

مقدمه

جمعیت (۹). میزان بروز بیماری در ایران ۱۳/۲ مورد در صد هزار می‌باشد (۱۰).

با توجه به این که عفونت بروسلایی دارای علائم بالینی متنوع و گمراه‌کننده بوده و در بعضی موارد شبیه بیماری‌های دیگر می‌باشد، دسترسی به روش‌های آزمایشگاهی ارزان، مطمئن، ساده و در عین حال قابل تکرار در تشخیص افتراقی و درمان بیماری کمک شایانی می‌نماید.

تست‌های آگلوتیناسیون موجود که در تشخیص این بیماری انجام می‌شود، دارای ویژگی‌های مذکور می‌باشند. با وجود روش‌های تشخیصی آزمایشگاهی متعددی که جهت شناسایی آنتی‌ژن بروسلا در سرم انسان وجود دارد، تست رایج‌ترین تست برای غربالگری^۱ و تشخیص بیماری به کار می‌رود ولی باید اذعان کرد با وجود روش‌های تشخیصی مختلف، هنوز هم در مورد اعتبار این روش‌ها نتایج متناقض و گمراه‌کننده‌ای ارائه می‌گردد. مطالعه حاضر با هدف ارزیابی آزمایش مذکور با توجه به وضعیت بیماری در کشور و امکانات آزمایشگاهی موجود و معیارهایی که برای تشخیص بیماری به کار می‌رود و در جهت کمک به تصمیم‌گیری‌های بالینی انجام شد.

روش تحقیق

در این مطالعه به منظور ارزیابی اعتبار تست رایج در غربالگری بروسلوز، ۳۴۰ بیمار با تشخیص قطعی بروسلوز (بر مبنای علائم بالینی، آزمایشگاهی و پاسخ به درمان) از بین بستری‌شدگان بخش عفونی بیمارستان شهید هاشمی‌نژاد مشهد به صورت تصادفی انتخاب شدند و آزمایش سرولوژی رایج آنها مورد بررسی قرار گرفت و حساسیت این تست محاسبه گردید. در مرحله اول معیار مثبت‌بودن برای تست رایج، تیتراژ ۱/۱۶۰ و در مرحله دوم تیتراژ ۱/۸۰ مبنای محاسبه و مقایسه حساسیت و ویژگی قرار گرفت.

برای محاسبه ویژگی تست رایج به عنوان گروه شاهد،

Screening^۵

بروسلوز یکی از مهمترین بیماری‌های مشترک بین انسان و دام می‌باشد که انتشار گسترده جهانی دارد و بیماری‌زایی آن در گونه‌های مختلف حیوانی شبیه به هم می‌باشد (۱). این بیماری از طریق مصرف محصولات لبنی آلوده مثل شیر و پنیر یا تماس با گوشت، مدفوع و ادرار حیوان آلوده به انسان منتقل می‌گردد (۲). شیر خام، محصولات لبنی غیر پاستوریزه، پنیر تازه و گوشت و احشای آلوده دام منابع شایع می‌باشد. گاهی انتقال ارگاناسم از طریق استنشاق هوای آلوده مسیر عبور گله‌ها نیز صورت می‌گیرد؛ چون باکتری به مدت ۷۲ روز در خاک مرطوب زنده می‌ماند (۱).

بروسلوز یک بیماری عفونی عمومی است که عامل آن باسیل‌های گرم منفی از جنس بروسلا می‌باشد که دارای گونه‌های عمده ملی‌تسنیس^۱، آبورتوس^۲، سوئیس^۳ و کانیس^۴ می‌باشد (۳،۴). به دلیل ماهیت علائم بالینی غیر واضح، موارد تشخیص داده‌نشده آن را تا چندین برابر اطلاعات منتشرشده، تخمین می‌زنند (۱).

اگرچه بیماری بروسلوز در کشورهای توسعه‌یافته تحت کنترل درآمده است، اما شیوع آن در کشورهای در حال توسعه رو به فزونی است؛ به طوری که سالانه بیش از پانصد هزار مورد به ثبت می‌رسد (۴). این بیماری در کشورهای در حال توسعه به عنوان یک مشکل بهداشتی مطرح است (۵).

شیوع بیماری در مناطق مدیترانه، مکزیک، مناطق جنوبی و مرکزی آمریکا بالا می‌باشد (۶،۷)؛ به علاوه در کشورهایی مثل ترکیه، عربستان سعودی، سوریه، اردن و ایران شیوع بالایی داشته و نیز در بعضی از کشورهای منطقه مدیترانه و ایران، به صورت بومی وجود دارد (۵،۸)؛ به نحوی که در طول سال‌های ۱۹۹۱ تا ۱۹۹۹، هر ساله ۹ هزار مورد جدید در ترکیه گزارش شده است (میزان بروز ۱۴ در صد هزار نفر

^۱ B. Melitensis

^۲ B. Abortus

^۳ B. Suis

^۴ B. Canis

جدول ۳- فراوانی مطلق و نسبی غیر مبتلایان به تفکیک نتیجه آزمون رایت (بر اساس تیتر ۱/۱۶۰)

نتیجه آزمون رایت	تعداد	درصد
منفی	۱۶۰	۱۰۰
مثبت	۰	۰
جمع	۱۶۰	۱۰۰

بیماران غیر مبتلا به بیماری بروسلوز که با تشخیص‌های دیگری غیر از بروسلوز برای آنها آزمایش رایت درخواست شده بود، انتخاب شدند (۱۶۰ نفر).

پس از استخراج اطلاعات و تشکیل جداول مربوطه حساسیت و ویژگی تست رایت با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS (نسخه ۱۱/۵) محاسبه گردید.

بحث

چون بروسلوز دارای علائم بالینی واضح و مشخص نبوده، روش‌های آزمایشگاهی ارزان و معتبر ارزش و اهمیت زیادی دارد. تست‌های رایت و رزبنگال^۱ دارای ویژگی‌های مذکور می‌باشد. نتایج مطالعات مقایسه‌ای انجام شده در مورد این تست‌ها گویای نظر فوق می‌باشد (۱۲،۱۱).

به طور معمول و روزمره، تشخیص بروسلوز بر مبنای تیتر مساوی یا بیش از ۱/۱۶۰ به روش رایت می‌باشد؛ مشروط به این که فرد علائم بالینی بیماری را داشته باشد؛ تشخیص قطعی بر اساس کشت خون یا مغز استخوان می‌باشد که نتایج کشت بسته به گونه باکتری، دوره بیماری، روش آزمایش و مصرف یا عدم مصرف دارو متغیر خواهد بود.

تاکنون کشت گونه‌های مختلف بروسلوز در محیط کشت کاستاندا^۲ انجام می‌شد که گرچه وقت‌گیر است ولی رضایت‌بخش بوده است (۱۳). امروزه روش‌های جدیدتر کشت هم مطرح است که ما در اختیار نداریم. با روش‌های کشت خون با استفاده از فناوری جدید، سرعت رشد باکتری نسبتاً افزایش یافته و مدت زمان نگهداری نیز تا هفت روز کاهش داده شده است (کشت در محیط کاستاندا را تا چهارده روز باید نگه داشت). توان تشخیصی روش‌های جدید ۹۰٪ می‌باشد (۵، ۸، ۱۴، ۱۵)؛ با این حال، تفکیک گونه باکتری به دلیل ایراد کلی در کشت باکتری مشکل و وقت‌گیر می‌باشد. بررسی‌های مختلف نشان داده است که در تمام مواردی که نتیجه کشت

یافته‌ها

بیماران مبتلا به بروسلوز ۵۳/۸٪ مذکر و ۴۶/۲٪ مؤنث و غیر مبتلایان به بروسلوز ۵۲/۷٪ مذکر و ۴۷/۳٪ مؤنث بودند. از مجموع آزمون‌های رایت مربوط به بیماران مبتلا به بروسلوز، ۸/۲٪ کمتر از ۱/۸۰ و ۱۱/۲٪ برابر ۱/۸۰ و ۸۰/۶٪ مساوی یا بیشتر از ۱/۱۶۰ بود (جدول ۱) که حساسیت تست رایت بر مبنای تیتر ۱/۸۰ و ۱/۱۶۰ به ترتیب برابر ۹۱/۸٪ و ۸۰/۶٪ محاسبه گردید.

آزمون رایت در افراد غیر مبتلا (گروه شاهد) ۹۷/۵٪ بر اساس تیتر ۱/۸۰ منفی و ۲/۵٪ مثبت بود که ویژگی آن ۹۷/۵٪ می‌شود. تمامی افراد گروه شاهد بر اساس تیتر ۱/۱۶۰ نتیجه آزمون منفی داشتند که بر این اساس، ویژگی تست ۱۰۰٪ می‌باشد (جدول ۲ و ۳).

جدول ۱- فراوانی مطلق و نسبی بیماران مبتلا به بروسلوز بر حسب تیتر آزمون رایت

تیتر آزمون رایت	تعداد	درصد
$1/80 <$	۳	۸/۲
$1/80$	۳۸	۱۱/۲
$1/160 \geq$	۲۷۴	۸۰/۶
جمع	۳۴۰	۱۰۰

جدول ۲- فراوانی مطلق و نسبی غیر مبتلایان به تفکیک نتیجه آزمون رایت (بر اساس تیتر ۱/۸۰)

نتیجه آزمون رایت	تعداد	درصد
منفی	۱۵۶	۹۷/۵
مثبت	۴	۲/۵
جمع	۱۶۰	۱۰۰

^۱ Rose Bengal
^۲ Castenda's Medium

مثبت و منفی تست راییت به ترتیب ۱۰۰٪ و ۹۹/۷٪ خواهد شد؛ ولی در مورد تست الیزا IgG به ترتیب ۴۵/۲٪ و ۷۹/۱٪ و الیزا IgM ۱۰۰٪ و ۸۹/۹٪ و ترکیبی از الیزاها به ترتیب ۶۳٪ و ۹۹/۶٪ خواهد بود (۹).

بر اساس نتایج این مطالعه، بیماران که دارای بروسلوز فعال بودند، حساسیت تست الیزای IgG و IgM نزدیک به تست راییت بود؛ بنابراین انجام آزمایشات ترکیبی الیزای IgG و IgM مشابه راییت خواهد بود و ارزش پیشگویی مثبت تست راییت و الیزای IgM رضایت بخش می باشد (۱۸).

باید توجه داشت در صورتی که عفونت با گونه بروسلاکانیس باشد، چون از آنتی ژن های سایر بروسلاها استفاده می شود و آنتی بادی ها ناقص می باشند، بررسی آنتی بادی در هر دو روش راییت و الیزا منفی خواهد بود (۱۶).

در مطالعه حاضر، حساسیت و ویژگی تست راییت با رقت ۱/۱۶۰ به ترتیب ۸۰/۶٪ و ۱۰۰٪ بود که مشابه مطالعه انجام شده در ترکیه می باشد (۱۵) ولی حساسیت تست راییت در مطالعه انجام شده در عربستان بیشتر گزارش شده است (۲۰، ۱۹)؛ بنابراین پیشنهاد می شود در کشورهایی که عمده موارد عامل بروسلوز گونه های غیر از کانیس می باشند، تست راییت با رقت ۱/۸۰، که با توجه به نتایج به دست آمده دارای حساسیت بالا می باشد، به عنوان تست معمول غربالگری پذیرفته شود، به شرط آن که از آنتی ژن استاندارد استفاده شود.

نتیجه گیری

با توجه به نتایج به دست آمده، حساسیت و ویژگی آزمون راییت بر اساس تیتر ۱/۸۰ به ترتیب ۹۲٪ و ۹۷/۵٪ بوده و بر اساس تیتر ۱/۱۶۰ به ترتیب ۸۰/۶٪ و ۱۰۰٪ می باشد. گرچه ویژگی به دست آمده برای آزمون راییت بر اساس تیتر ۱/۱۶۰ که معیار پیشنهادی کتب مرجع برای تشخیص بیماران بروسلوزی است، بالا می باشد ولی به علت حساسیت نسبتاً

مثبت گزارش شده، تست های تشخیصی رزینگال و راییت نیز مثبت بوده اند. (در این موارد تست راییت مساوی یا بیشتر از ۱/۱۶۰ تشخیصی تلقی شده است.) اگر چه واکنش متقاطع بین عامل بروسلوز و عوامل وبا، فرانسسیلا^۱ و یرسینیا^۲ وجود دارد (۱۷، ۱۶، ۹)؛ ولی در کشور ما چون معمولاً همه گیری این باکتری ها وجود ندارد، مشکلی ایجاد نمی کند. گرچه گاهی ممکن است عوامل شبه وبا در بعضی مناطق که همه گیری آن مطرح است، باعث تداخل شود که باید مورد توجه قرار گیرد. تیتراهای پایین تر از ۱/۱۶۰ هم به شرط این که افزایش یافته باشند، با ارزش خواهد شد. گاهی هم دیده شده است در افرادی که سل فعال دارند، تیتر آنتی بادی ضد بروسلوز آنها مساوی یا بیش از ۱/۱۶۰ است که با علائم بالینی منطبق نمی باشد (۱۷). تست های تشخیصی حساس تر هم وجود دارد اما تست های راییت و 2ME^۳ به حد کافی برای تشخیص بروسلوز رضایت بخش می باشند (۱۷، ۷، ۶).

در یک مطالعه مقایسه ای که در مورد ارزش تست راییت با تیتر ۱/۱۶۰، الیزای IgG و IgM در مورد ۱۸۴ بیمار تأیید شده در ترکیه انجام شد، میزان مثبت بودن تست ها به ترتیب ۸۳/۷٪، ۶۱/۹٪ و ۴۹/۵٪ بود (۱۵)؛ در حالی که میزان مثبت شدن رزینگال در مورد بروسلا ملی تنسیس و آبورتوس به ترتیب ۲۵٪ و ۳۰٪ بود (۱۳)؛ بنابراین تست رزینگال و الیزا حساسیت کمتری نسبت به تست راییت دارند؛ بررسی دیگری که بر روی ۶۸ بیمار با ۷۰ فرد سالم به عنوان شاهد در عربستان سعودی برای مقایسه تست سرولوژی استاندارد و الیزا انجام شد، نشان داد که حساسیت و ویژگی تست های استاندارد به ترتیب ۹۵/۶٪ و ۱۰۰٪ بود؛ در مقابل در مورد تست الیزای IgG ۴۵/۶٪ و ۹۷/۱٪ و در مورد الیزای IgM ۷۹/۱٪ و ۱۰۰٪ بود (۹).

چنانچه فرض کنیم شیوع بروسلوز فعال در عربستان با در نظر گرفتن تیتر بالای ۱/۳۲۰ تست راییت، ۵٪ باشد، پیشگویی

^۱ Francisella

^۲ Yersinia

^۳ 2-Mercaptoethanol

تقدیر و تشکر

نویسندگان مقاله از مسؤولین و کارکنان محترم بخش عفونی بیمارستان امام رضا (ع) مشهد که ما را در انجام این تحقیق یاری کردند، تشکر و قدردانی می‌نمایند.

پایین آن، بهتر است تیتراژ ۱/۸۰ به عنوان تیتراژ پایه جهت غربالگری بیماران در نظر گرفته شود. بدیهی است سایر روش‌های تشخیصی می‌توانند در موارد محدودی که این تست‌ها جهت تشخیص قطعیت ندارند، به تایید تشخیص نهایی کمک نمایند.

منابع:

- 1- Joklik WK, Willett HP, Amos DB, Wilfert CM. Zinsser Microbiology. 20th ed. USA: Appleton & Lange; 1992.
- 2- Brooks GF, Carroll KC, Butel JS, Morse SA. Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology. 24th ed. USA: McGraw-Hill Medical; 2004.
- 3- Colmenero JD, Reguera JM, Martos F, Sánchez-De-Mora D, Delgado M, Causse M, et al. Complications associated with Brucella melitensis infection: a study of 530 cases. Medicine (Baltimore). 1996; 75(4): 195-211.
- 4- Murray P R, Rosenthal KS. Medical Microbiology. 4th ed. London: Mosby; 2002. pp: 313-315.
- 15- Refai M. Incidence and control of brucellosis in the Near East region. Vet Microbiol. 2002; 90(1-4): 81-110.
- 6- Yagupsky P. Detection of Brucellae in blood cultures. J Clin Microbiol. 1999; 37(11): 3437-3442.
- 7- Young EJ. Brucella species. In: Mandell G.L, Bennett J.E, Dolin R. (Eds). Principles and Practice of Infectious Diseases. 5th ed. Philadelphia: Churchill-Livingstone; 2000. pp: 2386-2393.
- 8- Ruiz J, Lorente I, Perez J, Simarro E, Martinez-Campos L. Diagnosis of brucellosis by using blood cultures. J Clin Microbiol. 1997; 35(3): 2417-2418.
- 9- Mert A, Ozaras R, Tabak F, Bilir M, Yilmaz M, Kurt C, et al. The sensitivity and specificity of Brucella agglutination tests. Diagn Microbiol Infect Dis. 2003; 46(4): 241-3.
- 10- Rust RS. Brucellosis. Available from: <http://emedicine.medscape.com/article/1164632-overview>.
- 11- Sharifi-mood B, Metanat M, Alavi-Naini R. Screening of the family members with acute brucellosis in south east of Iran. Indian J Microbiol. 2007; 25(2): 176-77.
- 12- Altwegg M, Bohl E. Evaluation of a rapid, reliable, and inexpensive screening test for the serological diagnosis of human brucellosis. Zentralbl Bakteriell Mikrobiol Hyg A. 1985; 260(1): 65-70.
- 13- Gómez MC, Nieto JA, Rosa C, Geijo P, Escibano MA, Muñoz A, et al. Evaluation of seven tests for diagnosis of human brucellosis in an area where the disease is endemic. Clin Vaccine Immunol. 2008; 15(6): 1031-1033.
- 14- Gotuzzo E, Carillo C, Guerra J, Llosa L. An evaluation of diagnostic methods for brucellosis-the value of bone marrow culture. J Infect Dis. 1986; 153(1): 122-125.
- 15- Barron E.J, Fingold S.M. Bailey & Scott's Diagn Microbiol. 8th ed. London: Mosby; 1990. pp: 208-209.
- 16- Sirmatel F, Türker M, Bozkurt AI. [Evaluation of the methods used for the serologic diagnosis of brucellosis]. Mikrobiyol Bul. 2002; 36(2): 161-7. [Turkish]
- 17- Mert A, Ozaras R, Tabak F, Bilir M, Yilmaz M, Kurt C, et al. The sensitivity and specificity of Brucella agglutination tests. Diagn Microbiol Infect Dis. 2003; 46(4): 241-3.
- 18- Raptis L, Pappas G, Akritidis N. A cutaneous cyst caused by brucellosis with a negative serological test. Int J Infect Dis. 2007; 11(1): 82-83.
- 19- Young EJ. Serologic diagnosis of human brucellosis: analysis of 214 cases by agglutination tests and review of the literature. Rev Infect Dis. 1991; 13(3): 359-372.
- 20- Memish ZA, Almuneef M, Mah MW, Qassem LA, Osoba AO. Comparison of Brucella standard agglutination test with the ELISA, IgG and IgM in patients with Brucella bacteremia. Diagn Microbiol Infect Dis. 2002; 44(2): 129- 132.

Evaluation of diagnostic validity of Wright's serologic test in Brucellosis

M. Sevednozadi¹, MR. Erfanian²

Background and Aim: Brucellosis is one of the most important worldwide zoonoses, which is endemic in many areas of Iran. As clinical findings are various and confusing in brucellosis; simple, inexpensive and valid laboratory tests would be helpful to diagnose the infection. This study aimed to evaluate the validity of Standard common serological test (Wright's) in the diagnosis of brucellosis.

Materials and Methods: In this study, 340 patients with diagnosis of brucellosis were randomly selected from admitted patients in infectious disease ward, and Wright's serologic test was studied. The sensitivity of Wright's test was calculated according to the basis of 1/160 and 1/80 titers. For calculating the specificity of this test according to the basis of 1/160 and 1/80 titers, 160 non-brucellosis patients with Wright's test results were selected as a control group.

Results: Out of 340 patients, 53.8% were male and 46.2% were female and from 160 controls, 52.7% were male and 47.3% were female. The sensitivity of Wright's test was 91.8% and 80.6% based on 1/80 and 1/160 titers, respectively. The specificity of Wright's test was 97.5% and 100% based on 1/80 and 1/160 titers, respectively.

Conclusion: According to the obtained results, it should be stated that Wright's test, which commonly is used in epidemiologic and diagnostic studies, has a significant validity and still can be used as a screening test based on 1/80 and as a diagnostic test based on 1/160 titer. It is obvious that other laboratory tests and if necessary, culture, may be used for definite diagnosis.

Key Words: Brucellosis; Wright's Serologic test; Validity; Sensitivity; Specificity

Journal of Birjand University of Medical Sciences. 2009; 16 (3):28-32

Received: 31.10.2007 Last Revised: 17.6.2008 Accepted: 16.9.2008

¹ Corresponding Author; Professor, Department of Community Medicine; Faculty of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences. Mashhad, Iran m_snozadi@yahoo.com

² Associate Professor, Department of Community Medicine; Faculty of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences. Mashhad, Iran