

## Evaluating the effectiveness of *Pistacia atlantica* in the improvement of diabetic foot

Nikbakht MR<sup>1</sup>, Soleimani Z<sup>2\*</sup>, Moravveji SA<sup>3</sup>, Esalatmanesh K<sup>4</sup>

- 1- Department of Pharmacology, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, I. R. Iran.  
2- Infectious Diseases Research Center, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I. R. Iran.  
3- Social Determinants of Health Research Center, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I. R. Iran.  
4- Autoimmune Diseases Research Center, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I. R. Iran.

Received July 31, 2016, 2015; Accepted July 13, 2016

### Abstract:

**Background:** Diabetic foot is the most common complication of hospitalization in diabetic patients. The use of herbal products for the relief of diabetic foot in developing countries have acquired considerable acceptance. This study was conducted to evaluate the effect of *Pistacia atlantica* (local name “Bane”) for the treatment of diabetic foot.

**Materials and Methods:** This double-blind randomized clinical trial study was conducted on patients (n=60) with diabetic foot in Beheshti hospital (Kashan, Iran) during 1388-1394. The participants were divided into two equal Intervention and Control groups. The wound dressing in Control and Intervention groups were done using the placebo and “Bane” ointment. Both groups were underwent the conventional (bandages and antibiotic) therapy. Afterwards, the wound characteristics and the duration of wound recovery were assessed in both groups.

**Result:** The Mean for hospital stay and recovery in intervention (13.8 compared to 33.7 days, respectively) and control groups (22.7 compared to 44.6 days, respectively) was statistically significant ( $P<0.05$ ). After discharge from hospital, the redness and wound discharge in the Control group was significantly lower than the control group.

**Conclusion:** The “Bane” extract inhibits the growth of some groups of bacteria in diabetic foot ulcers and hence reduces the recovery time and hospital stay.

**Keywords:** Effectiveness, *Pistacia atlantica*, Diabetic foot

\* Corresponding Author.

Email: Soleimani.zahra@yahoo.com

Tel: 0098 913 361 9320

Fax: 0098 31 55 54 8900

IRCT Registration No. IRCT138812243576N1

Conflict of Interests: No

*Feyz*, Journal of Kashan University of Medical Sciences, October, 2016; Vol. 20, No 4, Pages 347-351

Please cite this article as: Nikbakht MR, Soleimani Z, Moravveji SA, Esalatmanesh K. Evaluating the effectiveness of (*Pistacia atlantica*) in the improvement of diabetic foot. *Feyz* 2016; 20(3): 347-51.

# بررسی اثر بخشی پسته وحشی (*Pistacia atlantica*) در بهبود پای دیابتی

محمد رضا نیکبخت<sup>۱</sup>، زهرا سلیمانی<sup>۲\*</sup>، سید علیرضا مروجی<sup>۳</sup>، کمال اصالت منش<sup>۴</sup>

خلاصه:

**سابقه و هدف:** پای دیابتی، شایع‌ترین علت بستری شدن بیماران دیابتی است. محصولات گیاهی در کشورهای در حال توسعه از مقبولیت زیادی برخوردارند. گیاه پسته وحشی (*Pistacia atlantica*) در ایران به بنه معروف است. این مطالعه جهت بررسی اثر بنه بر بهبودی پای دیابتی انجام شده است.

**مواد و روش‌ها:** این کارآزمایی بالینی تصادفی دوسوکور روی ۶۰ نفر بیمار مبتلا به پای دیابتی بستری در بخش عفونی بیمارستان شهید بهشتی کاشان طی سال‌های ۱۳۸۸ تا ۱۳۹۴ که به دو گروه ۳۰ نفره مداخله و کنترل تقسیم شدند، انجام شده است. پانسمان گروه کنترل با دارونما و گروه مداخله با پماد بنه بود. هر دو گروه تحت درمان‌های معمول (پانسمان و درمان آنتی‌بیوتیکی) قرار گرفتند و مشخصات زخم و طول مدت بهبودی در دو گروه بررسی گردید.

**نتایج:** میانگین مدت بستری و بهبودی گروه مداخله (به ترتیب ۱۳/۸ و ۳۳/۷ روز) نسبت به گروه کنترل (به ترتیب ۲۲/۷ و ۴۴/۶ روز) معنی‌دار بود ( $P < 0.05$ ). قرمزی و ترشح در گروه مداخله پس از ترخیص به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه کنترل بود.

**نتیجه‌گیری:** استفاده از عصاره بنه مانع رشد گروهی از باکتری‌ها در زخم پای دیابتی شده و مدت زمان بهبودی و بستری را کاهش می‌دهد.

**واژگان کلیدی:** اثر بخشی، پسته وحشی، پای دیابتی

دو ماه‌نامه علمی - پژوهشی فیض، دوره بیستم، شماره ۴، مهر و آبان ۱۳۹۵، صفحات ۳۵۱-۳۴۷

## مقدمه

هم‌چنین، اثر ضد باکتریایی عصاره اتانولی برگ‌های این گیاه توسط Benhammou و همکاران گزارش شده است [۶]. با توجه به اینکه زخم پای دیابتی از معضلات سلامت در بیماران دیابتی می‌باشد و با در نظر گرفتن خواص آنتی‌بیوتیکی گیاه بنه، تصمیم گرفتیم تاثیر این گیاه را در درمان زخم پای دیابتی بیماران بستری شده در به بخش عفونی بیمارستان شهید بهشتی کاشان بررسی نمائیم.

## مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر از نوع کارآزمایی بالینی تصادفی دوسوکور می‌باشد که پس از اخذ مجوز از کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی کاشان با شماره ۴۹۴۸ و درج در مرکز ثبت کارآزمایی‌های بالینی ایران با کد IRCT138812243576N1 انجام شد. با توجه به اینکه مطالعه مشابهی در این زمینه وجود نداشت، و با در نظر گرفتن امکانات موجود، ۶۰ بیمار مبتلا به پای دیابتی مراجعه کننده به بخش عفونی بیمارستان شهید بهشتی کاشان طی سال‌های ۱۳۸۸ تا ۱۳۹۴ پس از کسب رضایت آگاهانه انتخاب شدند و بر اساس جدول اعداد تصادفی در دو گروه ۳۰ نفری شاهد و مداخله قرار گرفتند. پماد موضعی از ترشحات ساقه گیاه پسته وحشی (*Pistacia atlantica*) در کوهستان‌های یاسوج به روش تیغ زنی بر روی ساقه به‌دست آمد. این ماده که شامل روغن پرارزش تربانتین است، به‌نسبت ۵۰ درصد ماده موثره و لانولین ۳۰ درصد و اوسرین ۲۰ درصد بود که در یکی از داروخانه‌های کاشان و

پای دیابتی به‌صورت زخم، عفونت و گانگرن بوده و مشکل اصلی در مراقبت از بیماران دیابتی می‌باشد که به‌دلیل عفونت شدید یا ایسکمی محیطی در ناحیه پا، منجر به قطع عضو می‌شود [۱]. درمان رایج زخم پای دیابتی شامل کنترل مناسب قند خون، درمان آنتی‌بیوتیکی، دبریدمان نسوج نکروزه، کاهش فشار مکانیکی و پانسمان مرتب می‌باشد [۲]. فرمولاسیون گیاهی در کشورهای در حال توسعه از مقبولیت قابل توجهی برخوردارند؛ علت این امر عوارض ناخواسته کمتر گیاهان دارویی و هم‌چنین قیمت کمتر آنها نسبت به داروهای دیگر است [۳]. گیاه پسته وحشی (*Pistacia atlantica*) در ایران به بنه معروف است و ۱۶ درصد پوشش گیاهی جنگل‌های زاگرس را تشکیل می‌دهد [۴]. Ghalem و همکاران، اثر ضد میکروبی اسانس این گیاه را نشان داده‌اند [۵].

<sup>۱</sup>دکترای تخصصی فارماکولوژی، گروه فارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران

<sup>۲</sup>استادیار، مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان

<sup>۳</sup>دانشیار، مرکز تحقیقات عوامل اجتماعی موثر بر سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کاشان

<sup>۴</sup>دانشیار، مرکز تحقیقات بیماری‌های اتوایمیون، دانشگاه علوم پزشکی کاشان

## \* نشانی نویسنده مسئول:

کاشان، کیلومتر ۵ بلوار قطب راوندی، بیمارستان شهید بهشتی

تلفن: ۰۹۱۳ ۳۶۱۹۳۲۰ | دورنویس: ۰۳۱ ۵۵۵۴۸۹۰۰

پست الکترونیک: Soleimani.zahra@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۵/۵/۱۰ | تاریخ پذیرش نهایی: ۹۵/۴/۲۳

آماری من ویتنی، مجذور کای و مک نمار مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

### نتایج

در این مطالعه ۶۰ بیمار با میانگین سنی ۶۳/۹۲ سال مورد بررسی قرار گرفتند که ۳۰ نفر در گروه مداخله با میانگین سنی ۶۲ سال و ۳۰ نفر در گروه کنترل با میانگین سنی ۶۵ سال قرار داشتند. میانگین سنی، مدت بیماری دیابت، قند خون ناشتا (FBS) و ESR بدو ورود در دو گروه اختلاف معنی داری نداشتند (جدول شماره ۱). میانگین مدت بستری و مدت زمان بهبودی در گروه مداخله (به ترتیب ۱۳/۸ و ۳۳/۷ روز) و در گروه کنترل (به ترتیب ۲۲/۷ و ۴۴/۶ روز) بود که تفاوت آنها معنی دار بود ( $P < 0.05$ ) (جدول شماره ۱).

تحت نظر فارماکولوژیست تهیه شد. بیماران با تشخیص قطعی دیابت و وجود زخم عفونی (قرمزی و ترشح) اندام تحتانی تحت مطالعه گرفتند. نمونه کشت میکروب شناسی به روش Punch از بافت عمقی محل زخم گرفته شد. در گروه کنترل رژیم آنتی-بیوتیکی سیستمیک و پانسمان با دارونما (لانولین و اوسرین) اجرا شد و در گروه مداخله علاوه بر رژیم آنتی-بیوتیکی سیستمیک از گیاه بنه به شکل موضعی بر روی زخم استفاده شد. روش پانسمان به این صورت بود که زخم با نرمال سالین شسته شده و سپس از پمادهای مذکور به صورتی که یک لایه نازک سطح زخم را بگیرد روزی دوبار استفاده شد و در پایان درمان نمونه کشت مجدد گرفته شد. زخم‌ها هر روز توسط متخصص عفونی دیده شد و ملاک اثربخشی، بررسی بالینی بیمار و نتیجه کشت بود. اطلاعات بیمار در نرم‌افزار SPSS ویرایش ۱۴ وارد گردید و با آزمون‌های

جدول شماره ۱- توزیع فراوانی مشخصات بیماران در دو گروه مطالعه

سن (سال)	مدت بیماری دیابت (سال)	FBS (mg/dl)	ESR	مدت بستری (روز)	مدت زمان بهبودی (روز)
۶۵±۸/۸	۲۰/۸±۱۰/۴	۲۵۹/۸±۱	۶۷/۱±۱۶/۵	۲۲/۷ ±۶/۲	۴۴/۶±۱۹/۵
۶۲±۱۱	۲۵±۱۱/۱	۲۰۴/۳±۴۸/۴	۶۱/۶±۱۶/۶۵	*۱۳/۸±۶/۷	*۳۳/۷±۱۹/۷
۶۳/۹۲±۱۰	۲۲/۹±۱۰/۹	۲۳۲/۱±۶۳/۹	۶۴/۴±۱۶/۶	۱۸/۳±۷/۸	۳۸/۷±۲۰/۲
P	۰/۱۳۵	P<۰/۰۰۱	۰/۱۴۷	P<۰/۰۰۱	۰/۰۰۴

درد و همچنین وجود ترشح در گروه مداخله پس از ترخیص به-طور معنی داری کمتر از گروه کنترل بود ( $P < 0.05$ ).

وجود یا عدم وجود قرمزی، درد، و ترشح در پای مبتلا، قبل از بستری و پس از ترخیص از بیمارستان در دو گروه مورد مطالعه در جدول شماره ۲ آورده شده است. وجود قرمزی در زخم و وجود

جدول شماره ۲- توزیع فراوانی علایم بالینی زخم قبل و بعد از بستری در بیماران مورد مطالعه

گروه	وجود قرمزی در زخم		وجود درد		وجود ترشح	
	قبل از بستری	پس از ترخیص	قبل از بستری	پس از ترخیص	قبل از بستری	پس از ترخیص
شاهد	۲۸	۸	۹	۰	۳۰	۱۲
مداخله	۲۸	*۰	۶	۲	۲۴	*۳

در این جدول  $P < 0.05$  می‌باشد.

مورد کشت منفی شدند (۸۶ درصد)، این درحالی است که در گروه مداخله از ۱۷ مورد کشت، همه موارد منفی شدند (۱۰۰ درصد). این درصدها در مورد استافیلوکوک اپیدرمیس در گروه شاهد و مداخله به ترتیب ۷۰ و ۱۰۰ درصد، در مورد اتروکوک صفر درصد، در مورد کلبسیلا ۵۰ و ۱۰۰ درصد و در مورد سایر باکتری‌ها در هر دو گروه ۱۰۰ درصد بود. علاوه بر اثرات بالا داروی ما اثر بسیار خوبی بر روی رویش بافت جدید نیز داشت.

همه کشت‌های به عمل آمده از زخم‌های دو گروه در قبل از بستری مثبت بود. بعد از ترخیص، ۸ مورد از کشت‌ها در گروه شاهد و فقط ۱ مورد کشت در گروه مداخله مثبت باقی مانده بود. وجود باکتری‌های استافیلوکوک اورئوس، استافیلوکوک اپیدرمیس، کلبسیلا، اتروباکتر و سایر باکتری‌ها در این کشت‌ها قبل از بستری و پس از ترخیص در جدول شماره ۳ نشان داده شده است. در گروه شاهد از ۱۵ مورد کشت مثبت استافیلوکوک اورئوس، ۱۳

جدول شماره ۳- توزیع فراوانی کشت در دو گروه مطالعه قبل و بعد از بستری

گروه	استافیلوکوک اورئوس		استافیلوکوک اپیدرمیس		انتروکوک		کلسیلا		سایر باکتری‌ها	
	قبل از بستری	پس از ترخیص	قبل از بستری	پس از ترخیص	قبل از بستری	پس از ترخیص	قبل از بستری	پس از ترخیص	قبل از بستری	پس از ترخیص
شاهد	۱۵	۲	۱۰	۳	۳	۳	۲	۱	۲	۰
مداخله	۱۷	۰	۷	۰	۱	۱	۳	۰	۴	۰
P	P<۰/۰۰۱		P<۰/۰۰۱		۱		P<۰/۰۰۵		P<۰/۰۰۱	

بحث

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد در گروهی که علاوه بر درمان‌های معمول پای دیابتی از پماد گیاهی ساخته شده از ترشحات ساقه گیاه بنه استفاده کرده بودند، زمان بهبودی و طول مدت بستری در بیمارستان به‌طور معنی‌داری از گروه شاهد کمتر بود. هم‌چنین، استفاده از این پماد گیاهی به‌همراه درمان‌های معمول در منفی شدن کشت از نظر استافیلوکوک اورئوس، استافیلوکوک اپیدرمیس، کلسیلا و سایر باکتری‌ها اثر مثبت داشت. علاوه بر اثرات بالا داروی ما اثر بسیار خوبی بر روی رویش بافت جدید نیز داشت. نشان داده شده است که گیاه بنه در محیط کشت میکروب فعالیت خوبی علیه استافیلوکوک اپیدرمیس داشته و قوی‌تر از اریترومیسین و گلوکوزاسیلین عمل می‌نماید [۷]. نتایج مطالعه ما علاوه بر تأیید این مطلب، اثر این گیاه را بر روی استافیلوکوک اورئوس و کلسیلا نیز اثبات می‌کند. در مطالعه‌ای دیگر اثرات ضد میکروبی اسانس بنه با روش دیسک‌دیفیوژن مطالعه شده و با جدیدترین آنتی‌بیوتیک‌ها که علیه این باکتری‌ها توصیه می‌شوند، مقایسه گردیده است. نتایج این مطالعه نشان داده است که عصاره بنه بر استافیلوکوکوس اورئوس و استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، اثرات ضد میکروبی داشته و هیچ‌گونه اثر ضد میکروبی بر علیه کلسیلا پنومونیه ندارد [۸]. در مطالعه ما علاوه بر تأیید تأثیر گیاه مورد نظر بر استافیلوکوک اورئوس و استافیلوکوک اپیدرمیدیس آثاری مبنی بر تأثیر این گیاه روی کلسیلا نیز یافت شده است. به‌منظور بررسی اثرات گیاه بنه روی پای دیابتی و عفونت ناشی از آن تا به حال مطالعه‌ای انجام نشده است، ولی مطالعات مشابهی با سایر مواد گیاهی و طبیعی بر روی زخم پای دیابتی انجام شده است. در مطالعه Abdelatif و همکاران اثر پمادی که با عسل رویال تهیه شده بود، بر روی زخم دیابتی بررسی شد. بیماران بر اساس شدت زخم به ۳ گروه تقسیم شدند: گروه اول زخم تمام ضخامت بدون گانگرن و استئومیلیت، گروه دوم به‌همراه استئومیلیت و گروه سوم زخم گانگرنی داشتند. همه زخم‌های گروه اول و ۹۲/۱ درصد از زخم‌های گروه دوم با درمان موضعی با پماد مورد نظر بهبود یافتند. هم‌چنین، همه زخم‌های گروه ۳ پس از دبریدمان جراحی بافت‌های مرده و درمان موضعی با پماد مورد

نظر بهبود یافتند [۹]. در این مطالعه بر خلاف مطالعه ما از گروه کنترل استفاده نشده بود و هم‌چنین بهبودی با ۲ معیار عدم وجود استئومیلیت و بسته شدن زخم سنجیده شده بود، درحالی‌که در مطالعه ما با قرمزی، درد، ترشح، لمس نبض در پای دیابتی سنجیده شده بود. به‌علاوه، در مطالعه ما مدت زمان بهبودی و مدت بستری نیز به‌عنوان دو فاکتور مهم در سیر بیماری در نظر گرفته شده بود. گیاه بنه و به‌خصوص قسمت‌های هوایی این گیاه سرشار از فلاوونولها، فلاونیک اسید، فلاوونها، آنتوسیانها و گالیک اسید است [۶]. مواد فنولیکی دارای خواص آنتی‌اکسیدانی و جاروب‌گر رادیکال‌های آزاد هستند که آثار مثبتی در ترمیم انواع زخم از خود نشان داده‌اند [۱۰]. مطالعه ما ثابت کرد که استفاده از پماد گیاهی ساخته شده از ترشحات ساقه گیاه بنه به‌صورت موضعی زمان بهبودی و بستری در بیمارستان را در بیماران مبتلا به زخم پای دیابتی می‌کاهد. این خاصیت را می‌توان به مواد فنولیکی به‌خصوص فلاوونوئیدهای موجود در این گیاه نسبت داد. مطالعه ما ثابت کرد که استفاده موضعی از پماد گیاهی ساخته شده از ترشحات ساقه گیاه بنه موجب منفی شدن کشت باکتری‌های استافیلوکوک اورئوس، استافیلوکوک اپیدرمیس، کلسیلا و اشریشیا کولای می‌شود. در مطالعه‌ای که توسط Benhammou و همکاران انجام شده است، به خواص آنتی‌باکتریایی این گیاه بر روی استافیلوکوک اورئوس و اشریشیا کولای اشاره شده است، ولی خاصیت آنتی‌باکتریایی بر روی استافیلوکوک اپیدرمیس برای آن ذکر نشده و عصاره این گیاه را روی کلسیلا بی‌تأثیر برشمرده است [۶]. در مطالعه ما در گروه مورد آزمایش از درمان‌های آنتی‌بیوتیکی و پماد گیاه بنه به‌طور هم‌زمان استفاده شد. آثار آنتی‌بیوتیکی مشاهده شده در این مطالعه می‌تواند علاوه بر آثار آنتی‌باکتریایی این گیاه ناشی از کاهش مقاومت آنتی‌بیوتیکی توسط این گیاه نیز باشد. مکانیسم‌های مختلفی برای کاهش مقاومت آنتی‌بیوتیکی وجود دارد. مواد موجود در عصاره‌های گیاهی به طرق مختلف می‌توانند این عمل را انجام دهند. بر اساس مدلی که Shanmugam و همکاران ارائه داده‌اند، کاهش مقاومت آنتی‌بیوتیکی توسط متابولیت‌های گیاهی مختلف و طی مکانیسم‌های خاص انجام می‌پذیرد [۱۱]. به‌هرحال استفاده از داروهای گیاهی

چنین، بنه اثر بسیار خوبی بر روی رویش بافت جدید در محل زخم این بیماران دارد.

### تشکر و قدردانی

این مطالعه با حمایت مالی معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی کاشان و واحد حمایت از طرح‌های بالینی تحت عنوان طرح تحقیقاتی شماره ۸۸۵۴ انجام شده که به این وسیله از حمایت و زحمات آن معاونت کمال تشکر را داریم.

### References:

- [1] Jeffcoate WJ, Lipsky BA, Berendt AR, Cavanagh PR, Bus SA, Peters EJ, et al. Unresolved issues in the management of ulcers of the foot in diabetes. *Diabet Med* 2008; 25(12): 1380-9.
- [2] Steed DL. Clinical evaluation of recombinant human platelet-derived growth factor for the treatment of lower extremity diabetic ulcers. Diabetic Ulcer Study Group. *J Vasc Surg* 1995; 21(1): 71-8.
- [3] Modak M, Dixit P, Londhe J, Ghaskadbi S, Paul A, Devasagayam T. Indian herbs and herbal drugs used for the treatment of diabetes. *J Clin Biochem Nutr* 2007; 40(3): 163-73.
- [4] Pourreza M. Sustainability of wild pistachio (*Pistacia atlantica* Desf.) in Zagros forests, Iran. *For Ecol Manage* 2008; 255: 3667-71.
- [5] Ghalem BR, Mohamed B. Bacterial activity of *Pistacia atlantica*. Desf mastic gum against certain pathogens. *Afr J Plabt Sci* 2009; 3(1): 13-5.
- [6] Benhammou N, Bekkara FA, Panovska TK. Antioxidant and antimicrobial activities of the *Pistacia lentiscus* and *Pistacia atlantica* extracts. *African J Pharm Pharmacol* 2008; 2(2): 22-8.

در بیماری‌های عفونی جایگاه ویژه‌ای داشته؛ به گونه‌ای که در برخی از مراجع اصلی این رشته تحت عنوان طب جایگزین مطرح گردیده است [۱۲].

### نتیجه‌گیری

استفاده موضعی از پماد تهیه شده از ترشحات ساقه گیاه بنه باعث کم شدن مدت بستری و مدت زمان بهبودی بیماران بستری شده به علت زخم پای دیابتی می‌شود و نیز باعث منفی شدن کشت میکروبی از زخم پای دیابتی بیماران می‌گردد. هم-

- [7] Curtis LS. Pharmacotherapy of diabetic foot ulcers. *J Pharm Practice* 2004; 17(1): 66-74.
- [8] Rathur HM, Boulton AJ. The neuropathic diabetic foot. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab* 2007; 3(1): 14-25.
- [9] Abdelatif M, Yakoot M, Etmaan M. Safety and efficacy of a new honey ointment on diabetic foot ulcers: a prospective pilot study. *J Wound Care* 2008; 17(3): 108-10.
- [10] Gomathi K, Gopinath D, Rafiuddin AM, Jayakumar R. Quercetin incorporated collagen matrices for dermal wound healing processes in rats. *Biomaterials* 2003; 24(16): 2767-72.
- [11] Hemaiswarya S, Kruthiventi AK, Doble M. Synergism between natural products and antibiotics against infectious diseases. *Phytomedicine* 2008; 15(8): 639-52.
- [12] Berman JD. Complementary and alternative Medicines for Infectious Diseases. In: Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 8<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Churchill Livingstone Elsevier; 2015. p. 597-604.