تحقیقی

دارای رتبه علمی - پژوهشی از کمیسیون
نشریات علوم پزشکی کشور

شیوع *مایکوباکتریوم توبرکلوزیس* مقاوم به چند دارو در استان گلستان با روش لوله های معرف رشد مایکوباکتریها (MGIT) در سال 90-1388

صدیقه لیوانی
کارشناس ارشد میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن، مرکز تحقیقات بیماری های عفونی دانشگاه علوم پزشکی گلستان

میرساعد میر نرگسی
استادیار، گروه بیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن

الناز نعمتی شجاع
کارشناس ارشد میکروبیولوژی، مرکز تحقیقات بیماری های عفونی دانشگاه علوم پزشکی گلستان

سهیل رفیعی
پزشک عمومی، مرکز بهداشت استان گلستان، دانشگاه علوم پزشکی گلستان

معصومه تازیکی
کارشناس علوم آزمایشگاهی، آزمایشگاه سل مرکز بهداشت دانشگاه علوم پزشکی گلستان

علیجان تبرائی
استادیار ویروس شناسی، مرکز تحقیقات بیماری های عفونی دانشگاه علوم پزشکی گلستان

عزت الله قائمی
دانشیار، میکروبیولوژی، مرکز تحقیقات بیماری های عفونی دانشگاه علوم پزشکی گلستان

نویسنده مسئول: عزت الله قائمی

تلفن : 09113711770

پست الکترونیک: eghaemi@yahoo.com

آدرس : گرگان، دانشگاه علوم پزشکی مجموعه فلسفی، دانشکده پزشکی، گروه میکروبیولوژی

وصول مقاله: 90/10/26
اصلاح نهایی: 90/12/24
پذیرش مقاله:91/1/16

www.SID.ir

چکیده

زمینه و هدف *: مشکلات ناشی از گسترش سویه های مایکوباکتریوم توبرکلوزیس مقاوم به چند دارو، شناسایی آنها را در هر منطقه ضروری نموده است. در این مطالعه فراوانی این سویه ها در استان گلستان در شمال ایران که یکی از کانون های اصلی سل در ایران می باشد مورد بررسی قرار گرفته است.*

روش بررسی: *از نمونه بالینی 148 بیمار مراجعه کننده به آزمایشگاه مرکز سل دانشگاه علوم پزشکی گلستان طی سال های 1390-1388 با روش لوله های معرف رشد مایکوباکتریوم (MGIT Mycobacteria growth indicator tube) مایکوباکتریوم توبرکلوزیس جدا شد. تست حساسیت به ایزونیازید و ریفامپین در این محیط و مطابق دستورالعمل شرکت سازنده (Becton-Dickinson-USA) انجام شد. توزیع فراوانی مقاومت براساس خصوصیات دموگرافیک و نیز سرعت رشد باکتری بررسی و مقایسه آنها با تست های آماری χ^2 و T test انجام شد و در تمامی موارد P کمتر از 0/05 معنی دار در نظر گرفته شد.*

یافته‌ها: *کشت 148 نمونه کلینیکی در MGIT مثبت بود، مدت زمان لازم برای رشد مایکوباکتریوم توبرکلوزیس در MGIT از 2 تا 55 (میانگین 10/4± 16/3) روز متغیر بود و زمان لازم برای بررسی نتیجه مقاومت دارویی 3± 9/57 روز برآورد شد. مقاومت به ایزونیازید و ریفامپین در این مطالعه به ترتیب 17/6% و3/4% تعیین گردید و از این تعداد، 5 نمونه (3/4%) (Multidrug resistant) MDR بودند (CI95%= 1-6%). بین مقاومت به این داروها با عواملی مثل جنس، سن، نتیجه اسمیر نمونه بالینی، نوع نمونه بالینی و سابقه ابتلا قبلی ارتباط آماری معنی داری مشاهده نگردید و در تمام موارد $P>$ 0/05 بود.*

نتیجه گیری *: شیوع MDR در استان گلستان 3/4% است که درحد آمار کشوری است. با روش MGIT جداسازی و آنتی بیوگرام ایزوله های MDR بطور متوسط 26 روز طول کشید که می تواند باعث کوتاه تر شدن زمان تشخیص و تعیین مقاومت دارویی باسیل سل گردد.*

واژه های کلیدی *: مایکوباکتریوم توبرکلوزیس، لوله های معرف رشد مایکوباکتریوم، مقاومت چند گانه*

آدرس مقاله:
لیوانی ص، میری نرگسی م س، نعمتی شجاع ا، رفیعی س، تازیکی م، تبرائی ع، قائمی ع ا"شیوع مایکوباکتریوم توبرکلوزیس مقاوم به چند دارو در استان گلستان با روش لوله های معرف رشد مایکوباکتریها(MGIT) در سال 90-1388 ". مجله علوم آزمایشگاهی پاییز و زمستان ، 1390دوره پنجم(شماره2) :14-8

Archive of SID

مقدمه

سل یک بیماری عفونی مرگبار است که جان میلیون ها نفر را در سراسر جهان به خطر می اندازد (1). ظهور سل مقاوم به چند دارو (Multidrug resistant- MDR) یعنی ابتلا به بیماری سل توسط ایزوله ای از مایکوباکتریوم توبرکلوزیس که حداقل به ایزونیازید و ریفامپین مقاوم باشد، اهمیت جهانی دارد. این موارد به سختی درمان شده و نیاز به داروهای خط دوم دارند که سمی تر و گران تر از داروهای خط اول می باشند (2). براساس گزارش WHO، حدود 440000 مورد MDRTB در سال 2008 رخ داده است (3)، شناسایی این انواع با روش های مختلفی انجام می شود. استفاده از روش های استاندارد سنتی، -Drug Susceptibility Testing) (DST که حساس یا مقاوم بودن سویه را در محیط کشت های جامد تعیین می کند، علاوه بر خطر احتمالی در حین کار، 8-3 هفته زمان می برد. محیط های کشت مایع چون به زمان کمتری برای رشد و ارزیابی مقاومت نیاز دارند در سالیان اخیر مورد استفاده قرار گرفته است. استفاده از لوله معرف رشد مایکوباکتریوم-(Mycobacterium growth indicator tube (MGIT یکی از این روش ها است. روش MGIT متشکل از محیط Middlebrook 7H9 تغییر یافته است که در انتهای لوله، یک حسگر فلورسنت حساس به اکسیژن قرار گرفته است. با رشد باکتری و مصرف اکسیژن، اثر خاموش کنندگی که اکسیژن بر روی حسگر فلورسنتی دارد از بین می رود؛ در نتیجه زمانی که به وسیله لامپ فرابنفش بررسی و مشاهده شود، تولید فلورسنت می نماید (4). روش دستی این سیستم به علت کوچکی و ارزانی دستگاه خوانش فلورسنت، استفاده از لوله های پلاستیکی و عدم استفاده از مواد رادیواکتیو در مراکز مختلف قابل استفاده است (5). در سال 2007 سازمان بهداشت جهانی(World Health Organization-WHO) توصیه نمود، که در کشورهای فقیر و آنهایی که منابع درآمدی متوسطی دارند، از محیط های مایع برای کشت و بررسی حساسیت دارویی باسیل سل استفاده شود. سیستم MGIT روشی حساس و سریع برای بررسی حساسیت نسبت به داروهای خط اول ضد سل می باشد (6 - 8). سیستم BACTEC MGIT 960 که روشی خودکار است به وسیله سازمان غذا و داروی امریکا (Food & Drug Administration-FDA) برای تعیین مقاومت دارویی برای داروهای خط اول پیشنهاد شده است (9).

WHO در سال 2009 میلادی نرخ شیوع سل را در ایران، 27 در 100000 نفر گزارش نموده است (10) که بالاترین میزان بروز و شیوع آن در استانهای سیستان و بلوچستان و گلستان می باشد (11). فراوانی موارد MDR در این گزارش از 5% برای افرادیکه به تازگی به بیماری مبتلا شده اند (موارد جدید) تا 48% برای افرادی که قبلاً نیز سابقه ابتلا به سل را داشتند متفاوت اعلام شده است (10). این مطالعه با هدف تعیین فراوانی سویه های MDR در ایزوله های *مایکوباکتریوم توبرکلوزیس* جدا شده از افراد مشکوک به سل مراجعه کننده به آزمایشگاه مرکز سل دانشگاه علوم پزشکی گلستان با روش MGIT انجام شده است.

روش بررسی

نمونه بالینی 268 نفر که با شک بالینی ابتلا به بیماری سل از آبان 1388 تا اردیبهشت 1390 به آزمایشگاههای مراکز بهداشت دانشگاه علوم پزشکی گلستان مراجعه کرده بودند، جمع آوری شد. اطلاعات دموگرافیک شامل سن، جنس، علت مراجعه و نوع نمونه بالینی در پرسشنامه ای ثبت شد. برای کشت نمونه ها، ابتدا تمامی نمونه ها به روش پتروف آلودگی زدایی شدند. همچنین رنگ آمیزی اسید-فست با روش زیل- نلسن انجام شد و کشت نمونه بالینی در MGIT طبق دستور العمل شرکت سازنده (Becton Dickinson-BD,USA) صورت گرفت. 0/5 میلی لیتر از ماده مغذی اولئیک اسید- آلبومین- دکستروز- کاتالاز (OADC) و 0/1 میلی لیتر از مخلوط آنتی بیوتیک پلی میکسین B، آمفوتریسین B، نالیدیکسیک اسید، تری متوپریم و آزلوسیلین (PANTA) به هر کدام از لوله های MGIT که حاوی 4 میلی لیتر محیط کشت مایع Middlebrook 7H9 است، اضافه

Archive of SID

www.SID.ir

گردید و بعد از افزودن 0/5 میلی لیتر از نمونه بالینی آلودگی زدایی شده، لوله ها در دمای 37 درجه سلسیوس اتوگذاری شد. بررسی رشد در لوله ها با دستگاه خوانش فلورسنت BACTEC microMGIT در طول موج 365 نانومتر از روز سوم کشت، به صورت روزانه انجام شد. بارکدی روی دستگاه قرار دارد که عدد 0 تا 20 را نشان می دهد. در صورتی که میزان نور ساطع شده از لوله، بیشتر از 14 باشد یعنی باکتری درحال رشد است. مقادیر کمتر از 14 منفی در نظر گرفته می شود. فرآیند بررسی نمونه ها روزانه تا 60 روز ادامه یافت. در زمان رشد باکتری و به منظور کنترل آلودگی، 0/1 میلی لیتر از محتویات لوله در محیط آگار خوندار کشت داده شد. لوله های کنترل مثبت و منفی مطابق دستورالعمل شرکت مورد استفاده قرار گرفت (12).پس از مثبت شدن لوله های MGIT، تست حساسیت به داروهای ایزونیازید و ریفامپین مطابق دستورالعمل شرکت انجام شد. برای این منظور 3 لوله MGIT جدید انتخاب شده به هر کدام 0/5 میلی لیتر OADC افزوده شد. یکی از لوله های فوق به عنوان لوله کنترل مثبت رشد (Growth Control;GC)، یکی به عنوان لوله سنجش حساسیت به ایزونیازید و دیگری به عنوان لوله سنجش حساسیت به ریفامپین در نظر گرفته شد. داروهای ایزونیازید و ریفامپین به صورت لیوفیلیزه از شرکت BD خریداری شد. غلظت نهایی ایزونیازید 0/1 µg/ml و غلظت نهایی ریفامپین 1 µg/ml شد. 0/5 میلی لیتر از لوله MGIT مثبت که قبلاً به نسبت 1 به 5 با آب مقطر رقیق شده بود، به هر کدام از لوله های فوق اضافه شد. همه لوله ها در دمای 37 درجه سلسیوس اتوگذاری شده و روزانه از روز سوم تا سیزدهم در دستگاه خوانش بررسی شدند. رشد در لوله کنترل مثبت، تأیید کننده درستی آزمایش بوده و اگر تا دو روز پس از مثبت شدن کنترل مثبت، لوله های حاوی دارو نیز مثبت می شدند، به عنوان مقاوم در نظر گرفته می شد. نمونه های مقاوم به چند دارو، در هر سه لوله، رشد نشان می دادند. یافته های تحقیق در نرم افزار SPSS (ver.16) وارد و با تست های تعیین فراوانی متغیرها و با آزمون مربع کای (χ^2) و T test مقایسه شدند. در تمامی موارد Pvalue کمتر از 0/05 معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

از 268 نمونه مورد بررسی، کشت 148 نمونه (55/2%) در لوله MGIT مثبت بود و 115 نمونه (42/9%) منفی شده و در 5 نمونه (1/9%) نیز آلودگی به سایر باکتری ها مشاهده شد. تست تعیین حساسیت دارویی برای 148 نمونه رشد کرده در لوله MGIT انجام شد. از این تعداد 81 نفر (54/7%) مرد و 67 نفر (45/3%) زن بودند و میانگین سنی آنها (30±) 54 سال بود. بیش از 85% نمونه ها، خلط بوده و نمونه های دیگر شامل BAL، شیره معدی، ادرار، مایع مغزی- نخاعی، مایع قوزک پا، مایع مفصل زانو و مایع پلور بود. در 118 مورد (79/7%) رنگ آمیزی اسمیر به روش زیل- نلسن مثبت و بقیه منفی بودند. 60% این بیماران به تازگی مبتلا شده بودند (موارد جدید) و بقیه افرادی بودند که تحت درمان قرار داشته و برای کنترل درمان مراجعه کرده بودند. زمان رشد مشاهده شده باسیل سل از 3 روز تا 55 روز متغیر بود (میانگین 10/43± 16/28 روز). میانگین های سرعت رشد بر حسب نوع نمونه، نتیجه اسمیر و موارد جدید یا کنترل درمان نیز محاسبه شد که هیچ کدام ارتباط آماری معنی داری نداشتند (جدول 1). مقاومت به ایزونیازید در 26 نمونه (17/6%) و مقاومت به ریفامپین در 5 نمونه (3/4%) مشاهده شد که هر 5 مورد اخیر (3/4%) MDR بودند (CI95%=1-6%). در آنالیز آماری، متغیر مقاومت به ایزونیازید، ریفامپین و موارد MDR، با هیچیک از متغیرهای جنس، نوع نمونه بالینی، مثبت شدن اسمیر و علت مراجعه ارتباط آماری معنی داری نداشت و در تمام موارد فوق Pvalue>0/05 بود(جدول 2). همچنین مشخص شد که میانگین سنی افرادی که به ایزونیازید مقاوم و حساس بودند به ترتیب 19/3± 57/5 سال و 21± 53/2 سال بود که این اختلاف معنی دار نبود (Pvalue=0/4). همچنین میانگین سنی افرادی که به ریفامپین مقاوم و یا حساس بودند به ترتیب 7/5± 67/4 و 21± 53/4 سال بود که این اختلاف نیز معنی دار نبود (Pvalue=0/1).

Archive of SID

www.SID.ir

جدول 1- میانگین روزهای سپری شده برای کسب نتیجه کشت مثبت در MGIT و بررسی مقاومت ایزوله ها به داروهای مورد آزمون

متغیر		میانگین (انحراف معیار±)	
		#MGIT	^DST
نمونه بالینی	خلط	17 (±10/8)	9/98 (±2/9)
	سایر	15/6 (±8/8)	8/7 (±2/5)
نتیجه بررسی میکروسکوپی*	مثبت	17 (±10/6)	8/9 (±2/7)
	منفی	15/8 (±10)	8/9 (±3/3)

زمان لازم برای اثبات رشد مایکوباکتریوم در لوله معرف رشد MGIT بر حسب روز

^ زمان لازم برای قرائت تست مقاومت دارویی در نمونه های کشت مثبت

*این نمونه ها پس از آلورگی زدایی، با روش زیل- نلسن رنگ آمیزی شدند.

میانگین تعداد روزهای سپری شده برای قرائت نتایج حساسیت رشد بر حسب نوع نمونه، نتیجه اسمیر و موارد جدید به داروهای ضد سلی 3± 9/57 روز بود. سریع ترین زمان رشد یا کنترل درمان نیز محاسبه شد که هیچ کدام ارتباط 3 روزو طولانی ترین زمان 13 روز بود. میانگین های سرعت آماری معنی داری نداشتند (جدول 1).

جدول 2- توزیع فراوانی متغیرهای مورد بررسی در موارد حساس و مقاوم به ایزونیازید و ریفامپین

متغیر / حساسیت به دارو		جنس		نوع نمونه		زیل نلسن		علت مراجعه	
		مرد تعداد(درصد)	زن تعداد(درصد)	خلط تعداد (درصد)	سایر تعداد (درصد)	مثبت تعداد (درصد)	منفی تعداد (درصد)	مورد جدید تعداد (درصد)	کنترل درمان تعداد (درصد)
ایزونیازید	مقاوم	18 (22)	8 (12/1)	22 (17/3)	4 (19)	19 (12/2)	7 (22/6)	15 (16/8)	11 (18/6)
	حساس	64 (78)	58 (87/9)	105 (82/7)	17 (81)	98 (87/8)	24 (77/4)	74 (83/1)	48 (81/4)
ریفامپین	مقاوم	3 (3/7)	2 (3)	4 (3/1)	1 (4/8)	4 (3/4)	1 (3/2)	4 (4/4)	1 (1/7)
	حساس	79 (96/3)	64 (97)	123 (96/9)	20 (95/2)	113 (96/6)	30 (96/8)	85 (95/6)	58 (98/3)

Archive of SID

www.SID.ir

بحث

در این مطالعه از 268 نمونه بالینی، 148 نمونه (55/2%) از نظر کشت در MGIT مثبت شد. این آمار بسیار بالاتر از آماری است که بطور طبیعی در مراکز بهداشت کشور مشاهده می شود. از آنجایی که هدف این مطالعه تعیین فراوانی MDR در مسلولین استان بود، ضروری بود که کشت در لوله MGIT برای افرادی انجام شود که ظن جدی ابتلا به بیماری سل را داشتند. این افراد کسانی بودند که حداقل یکی از معیارهای زیر را داشتند: علایم و نشانه های بالینی ابتلا مثل کاهش وزن، سرفه و خلط خونی، افراد تحت درمان که در پایان ماه دوم مراجعه می کردند، افراد جدید و یا افراد تحت درمان که در اسمیر آنها باسیل اسید فست مشاهده می شد. سایر افرادی که برای بررسی وضع سلامت و یا تست های روتین بهداشتی به مراکز بهداشت مراجعه و برای آنها تست اسمیر خلط از نظر باسیل اسید فست انجام می شد، در این مطالعه وارد نشدند. این موارد دلیل بالا بودن درصد موارد مثبت کشت در این مطالعه می باشد. ایزونیازید و ریفامپین از مناسب ترین داروهای ضد سل هستند که بیشتر باسیل های سل را در دو ماه ابتدایی بعد از شروع درمان می کشند و تا پایان دوره شش ماهه درمان، مصرف آنها ضروری است. ظهور سویه های مقاوم به این داروها سبب پرداخت هزینه بالاتر و کاربرد داروهایی به مراتب کم اثرتر و سمی تر می باشد که سبب نگرانی مسئولین بهداشتی در جهان می باشد. آمارها نشان می دهد در کشورهای مختلف شیوع MDR متفاوت است به طوریکه در اکثر کشورهای قاره امریکا و اروپا و بخش هایی از قاره افریقا شیوع کمتر از 3% می باشد، اما در بعضی از کشورها مثل مناطقی از بلوک سابق روسیه و بویژه کشور آذربایجان شیوع آن تا بیش از 18% هم گزارش شده است. آمار MDR در افرادی که سابقه قبلی بیماری سل یا شکست درمان داشتند بطور قابل توجهی بالاتر بوده در کشورهای شوروی سابق به بیش از 50% می رسد (13). در مطالعه حاضر، فراوانی MDR در استان گلستان از اواخر سال 1388 تا اوایل سال 1390 برابر 3/4% بود. در مطالعه دیگری که جاوید و همکاران در سال 1387 در همین استان انجام دادند، 2/3% موارد MDR بودند (14). گزارش های مختلفی از سایر نقاط ایران وجود دارد به طوریکه فراوانی مقاومت چند دارویی را ذاکر و همکاران در زابل برابر 13%، در مطالعه ای در کاشان بر روی 100 بیمار مقاومت را 17/2% و در تهران در سال 2003-2000 این رقم را 19/3% اعلام کرده اند (15-17). در اهواز نیز از 80 سویه مورد بررسی، مقاومت به ایزونیازید و ریفامپین در 6/3% و 7/5% افراد ذکر شد ولی میزان MDR ذکر نشده بود که طبیعتاً کمتر یا مساوی 6/3% است (18). طبق آمار WHO در ایران در سال 2006 از 522 نفری که برای آنها آزمون حساسیت دارویی انجام شد، 5/4% MDR بودند، این میزان در سال 2007 به 8/1% و در 2008 در حد 6/4% گزارش شد (19). اما به طور کلی در ایران میزان MDR در موارد جدید سل، بین 6%-3 اعلام شده است. با اینکه استان گلستان از مراکز اصلی شیوع بیماری سل در ایران است ولی در هر دو مطالعه انجام شده در استان گلستان که با روش های مختلف ملکولی و کشت در محیط مایع انجام شد آمار مقاومت چندگانه به نسبت سایر گزارشات کشوری در حد پائین تری قرار دارد (10 و 14). بهمین دلیل باید سیاست های احتیاطی برای پیشگیری از گسترش MDR در استان گلستان مطابق دستورالعمل کشوری ادامه یابد. در مطالعه ما موارد MDR در مردان بیشتر بوده اما ارتباط معنی داری بین جنسیت و مقاومت مشاهده نشد. ارتباط بین میزان MDR و جنسیت در نقاط دیگر متفاوت گزارش شده به طوری که در اروپای غربی، احتمال MDR در مردان بیشتر است اما در اروپای شرقی این گونه نیست (20). اگرچه در این مطالعه تمام افراد مبتلا به سل مقاوم به چند دارو، سن بالای 58 سال داشتند ولی ارتباط آماری بین سن و میزان مقاومت مشاهده نشد. در بعضی مطالعات ارتباط ضعیفی بین سن کمتر از 65 سال و مقاومت به دارو گزارش شده است به عنوان مثال در مطالعه ای در تایوان، 3/4% افراد کمتر از 65 سال و 1/2% بیشتر از 65 سال MDR بودند (20 و 21). در این مطالعه میانگین تعداد روز لازم برای مثبت شدن نتیجه کشت *مایکوباکتریوم توبرکلوزیس* در MGIT حدود 16 روز و برای DST حدود 9/5 روز بود که با مطالعات دیگر همخوانی دارد (6 و22-24). زمان دستیابی به

Archive of SID

www.SID.ir

نتیجه DST برای سل از اهمیت زیادی برخوردار است. روش هایی که با تکیه بر محیط های کشت جامد انجام می شوند معمولاً به زمان طولانی تر نیاز دارند. روش proportional به عنوان Gold Standard برای کشت به زمانی بین 8-3 هفته و برای آنتی بیوگرام به 6-4 هفته دیگر نیاز دارد. طی دهه اخیر، روش هایی بر پایه کشت در محیط های مایع گسترش یافته است. از آن جمله روش BACTEC 460 که از طرف FDA به عنوان روش استاندارد برای DST توصیه شده و زمان DST را به کمتر از یک هفته کاهش داده است (25). چندین مطالعه، کارایی MGIT را با روش هایی مثل proportional و BACTEC و همچنین زمان مورد نیاز برای انجام DST را مقایسه کرده اند و به این نتیجه رسیده اند که روش MGIT با حساسیت و ویژگی نسبتاً خوب و همچنین زمان مشابه با BACTEC به عنوان روشی کم خطرتر می تواند جایگزین مناسبی برای روش های مذکور باشد (6، 26 و27).

نتیجه گیری

به طور کلی میزان MDR در استان گلستان نسبتاً پایین بوده و در حد آمار ارایه شده WHO می باشد. برای پایش و درمان مناسب بیماران در جهت عدم گسترش موارد مقاوم، انجام آزمون های حساسیت دارویی ضروری به نظر می رسد که روش MGIT با زمان کوتاه تری برای دستیابی به نتیجه، می تواند مورد استفاده قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

از تمامی کارکنان محترم آزمایشگاه سل مرکز بهداشت استان گلستان به خاطر همکاری صمیمانه در تهیه نمونه تشکر می نماییم. این مطالعه، نتیجه پروژه تحقیقاتی مصوب مرکز تحقیقات عفونی و معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی گلستان می باشد.

References

1- Green E, Obi C L, Nchabeleng M, de Villiers B E, Sein P P, Letsoalo T, *et al*. *Drug-susceptibility patterns of Mycobacterium tuberculosis in Mpumalanga province, south africa: Possible guiding design of retreatment regimen*. J Health Popul Nutr. 2010; 28(1):7-13.

2- Merza M A, Farnia P, Salih A M, Masjedi M R, Velayati A A. *First insight into the drug resistance pattern of Mycobacterium tuberculosis in Dohuk, Iraq: Using spoligotyping and MIRU-VNTR to characterize multidrug resistant strains*. Journal of Infection and Public Health. 2011; 4: 41- 47.

3- World Health Organization. WHO report global tuberculosis control 2010. Available on: http://whqlibdoc.who.int/publications/2010/9789241564069_eng.pdf

4- Goloubeva V, Lecocq M, Lassowsky P, Matthys F, Portaels F,Bastian I. *Evaluation of mycobacteria growth indicator tube for direct and indirect drug susceptibility testing of Mycobacterium tuberculosis from respiratory specimens in a siberian prison hospital.* Journal Of Clinical Microbiology. 2001; 39(4): 1501–1505.

5- Becton Dickinson, Product Center. *Manual Mycobacterial Growth Systems.* Available on: *http://www.bd.com/ds/productCenter/MT-Manual.asp*

6- Martin A, von Groll A, Fissette K, Palomino J C, Varaine F, Portaels F. *Rapid detection of Mycobacterium tuberculosis resistance to second-line drugs by use of the manual mycobacterium growth indicator tube system*. Journal of Clinical Microbiology. 2008; 46(12):3952- 3956.

7- Balabanova Y, Drobniewski F, Nikolayevskyy V, Kruuner A, Malomanova N, Simak T, *et al*. *An Integrated Approach to Rapid Diagnosis of Tuberculosis and Multidrug Resistance Using Liquid Culture and Molecular Methods in Russia*. PLoS ONE. 2009; 4(9): e7129.

8- Adjers-Koskela K, Katila M L. *Susceptibility testing with the manual mycobacteria growth indicator tube (MGIT) and the MGIT 960 system provides rapid and reliable verification of multidrug-resistant tuberculosis*. Journal of Clinical Microbiology. 2003; 41(3): 1235–1239.

9- Rusch-Gerdes S, Pfyffer G E, Casal M, Chadwick M, Siddiqi S. *Multicenter laboratory validation of the BACTEC MGIT 960 technique for testing susceptibilities of Mycobacterium tuberculosis to classical second-line drugs and newer antimicrobials*. Journal of Clinical Microbiology. 2006; 44: 688-92.

10- World Health Organization. IRAN tuberculosis profile. Available on: https://extranet.who.int/sree/Reports?op=Replet&name=%2FWHO_HQ_Reports%2FG2%2FPROD%2FEXT%2FTBCountryProfile&ISO2=IR&outtype=pdf

Archive of SID

www.SID.ir

11- Ministry of health and medical education. *Incidence of tuberculosis in Iran*. Available on: http://www.cdc.hbi.ir/Iran_global_tb_map.html

12- Becton Dickinson, Product Center. *BBL™ MGIT™ Mycobacteria Growth Indicator Tube*. Available on: http://www.bd.com/ds/productCenter/245113.asp

13- World Health Organization. The stop TB department. 2011. Available on: http://www.who.int/tb/challenges/mdr/drs_maps_feb2011.pdf

14- Javid SN, Ghaemi E, Amirmozaffari N, Rafiee S, Moradi A, Dadgar T. *Detection of Isoniazid and Rifampin Resistant Strain of Mycobacterium Tuberculosis Isolated from patients in Golestan province (North of Iran)*. Medical Laboratory Journal. 2009; 3 (1): 1-8(In Persian).

15- Zaker Bostan Abad S, Titov L P, Karimi A, Nur Nematollahi A, Masomi M, Yari S, Abdolrahim F, *et al*. *Molecular characterization and tree evolution of rifampicine and isoniazid-resistance in multi drug resistance strains isolated from primary and secondary tuberculosis diseases in southern endemic border of Iran*. Turkish Respiratory Journal. 2008; 9(1): 24-33.

16- Moniri R, Rasa S H, Mousavi Gh A. *A survey on type of mycobacterium and drug resistance rates of mycobacterium tuberculosis strains in Kashan*. Journal of Shahid Sadoughi university of Medical Sciences and Health Services. 2001; 9(1): 67-70(In Persian).

17- Shamaei M, Marjani M, Chitsaz E, Kazempour M, Esmaeili M, Farnia P, *et al*. *First-line anti-tuberculosis drug resistance patterns and trends at the national TB referral center in Iran, eight years of surveillance*. International Journal of Infectious Diseases .2009; 13: 236—240.

18- Khosravi A, Dezfulian A, Alavi S M. *Detection of isoniazid and rifampin resistant Mycobacterium tuberculosis isolated from tuberculosis patients using conventional method and PCR*. Pak J Med Sci. 2006; 4(22): 47-50.

19- World Health Organization. *MDR-TB, 2004–2010*. Available on: http://www.who.int/tb/publications/global_report/2009/update/a-8_full.pdf

20- Faustini A, Hall A J, Perucci C A. *Risk factors for multidrug resistant tuberculosis in Europe: a systematic review*. Thorax. 2005; 61: 158–163.

21- Yu C, Chang C, Liu C, Shih L, Hsiao J, Chen C. *Drug resistance pattern of mycobacterium tuberculosis complex at a medical center in central Taiwan, 2003–2007*. J Microbiol Immunol Infect. 2010; 43(4): 285–290.

22- Bergmann J S, Woods G L. *Mycobacterial growth indicator tube for susceptibility testing of Mycobacterium tuberculosis to isoniazid and rifampin*. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease.1997; 28(3):153-156.

23- Ardito F, Posteraro B, Sanguinetti M, Zanetti S, Fadda G. *Evaluation of BACTEC mycobacteria growth indicator tube (MGIT 960) automated system for drug susceptibility testing of Mycobacterium tuberculosis.* Journal of Clinical Microbiology. 2001; 39(12): 4440–4.

24- Anek-vorapong R, Sinthuwattanawibool C, Podewils L J, McCarthy K, Ngamlert K, Promsarin B, *et al*. *Validation of the GenoType® MTBDRplus assay for detection of MDR-TB in a public health laboratory in Thailand. BMC Infectious Diseases.* 2010; 10:123. Available on: http://www.biomedcentral.com/1471-2334/10/123

25- Veldsman C. *The prevalence of isoniazid and rifampicin resistance of Mycobacterium tuberculosis*. 2009; M.Sc. thesis, University of Pretoria. Available on:

http://upetd.up.ac.za/thesis/submitted/etd-05132010-161228/unrestricted/dissertation.pdf

26- Huang T S, Tu H Z, Lee S S, Huang W, Liu Y. *Antimicrobial susceptibility testing of Mycobacterium tuberculosis to first-line drugs: comparisons of the MGIT 960 and BACTEC 460 systems*. Annals of Clinical & Laboratory Science. 2002; 32(2):142-147.

27- Rusch-Gerdes S, Domehl C, Nardi G, Gismondo M R, Welscher H, Pfyffer G E. *Multicenter evaluation of the mycobacteria growth indicator tube for testing susceptibility of Mycobacterium tuberculosis to first-line drugs*. Journal of Clinical Microbiology. 1999; 37(1): 45–48.

Archive of SID

www.SID.ir