مقاله پژوهشی

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک
سال 15، شماره 5 (شماره پیاپی 64)، مهر 1391، 34-26

تعیین گروه‌های اصلی ژنتیکی سویه‌های کلینیکی میکوباکتریوم توبرکلوزیس جدا شده از بیماران مسلول استان مرکزی از طریق تعیین پلی مورفیسم در ژن‌های *gyrA* و *katG*

آرزوعشقی نژاد فرد[1]، علی اصغر فرازی[2]، بابک عشرتی[2]، حمید خلیلی[3]، مانا شجاع پور[4]، اعظم احمدی[5]، محمد ارجمندزادگان[6]*

1- دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم، قم، ایران
2- استادیار، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات سل و عفونی کودکان، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران
3- پزشک، مرکز بهداشت شهرستان اراک ، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران
4- کارشناس ارشد، مرکز تحقیقات پزشکی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران
5- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه سلولی مولکولی ، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران
6- استادیار، مرکز تحقیقات پزشکی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران

تاریخ دریافت: 90/6/20 تاریخ پذیرش: 90/10/7

چکیده

زمینه و هدف: تمام اعضای میکوباکتریوم توبرکلوزیس به سه گروه ژنتیکی مختلف بر اساس پلی مورفیسم در دو ژن *katG* و *gyrA* تقسیم می‌شوند. تعیین سویه‌های متعلق به هر گروه و به ویژه تشخیص سریع آن، دارای اهمیت ویژه اپیدمیولوژیک است. هدف این تحقیق، تعیین گروه‌های اصلی ژنتیکی سویه‌های کلنیکی میکوباکتریوم توبرکلوزیس می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه مقطعی، سی و سه نمونه خلط از بیماران مسلول استان مرکزی جمع‌آوری و پس از کشت، مورد جداسازی DNA با استفاده از Chelex 100 قرار گرفت. شناسایی نمونه‌ها با تشخیص ژن *katG* با کمک PCR انجام و تائید گردید. موتاسیون در کدون KatG463 با کمک RFLP انجام شد. قطعه 620 bp از ژن *katG* و 194 bpاز ژن *gyrA* تکثیر و تعیین ترادف شد.

یافته‌ها: جستجو و تکثیر قطعه 620-bp ژن *katG* ، روش مناسبی برای تائید مولکولی در تشخیص باکتری بود. این مسئله از نظر فنوتیپی نیز انطباق کامل نشان داد. از میان 33 ایزوله مورد مطالعه، دوازده نمونه، گروه ژنتیکی 1، پانزده نمونه گروه ژنتیکی 2 و شش نمونه گروه ژنتیکی 3 را نشان دادند. بدین ترتیب فراوانی گروه دو به عنوان گروه غالب سویه‌ها در استان مرکزی با فراوانی معادل 45/5 درصد مشخص گردید.

نتیجه‌گیری: نتایج این تحقیق بیان‌گر رخداد گروه دو با فراوانی بیشتر در میان سویه‌های کلنیکی استان مرکزی می‌باشند. این مسئله با حساس بودن این سویه‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های رایج، انطباق داشته و درخور توجه می‌باشد. در این تحقیق کاربرد سه گانه تست ارائه شده در تعیین هم زمان گروه‌های ژنتیکی، ماهیت باکتری و مقاومت به ایزونیازید اثبات گردید.

واژگان کلیدی: *gyrA*، *katG* ،میکوباکتریوم توبرکلوزیس، گروه‌های اصلی ژنتیکی

***نویسنده مسئول:** اراک، دانشگاه علوم پزشکی اراک، گروه میکروب شناسی و ایمنی شناسی
Email: mmatinam81@yahoo.com

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

سل یک بیماری واگیردار می‌باشد و بیماران مبتلا به سل ریوی مهم‌ترین منبع عفونت هستند. عفونت از طریق استنشاق قطرات محتوی باکتری مایکوباکتریوم توبرکلوزیس آغاز می‌شود. این قطرات به دلیل اندازه کوچک خود، می‌توانند در هوا به مدت چند دقیقه تا چند ساعت معلق باقی بمانند. در صورتی که فرد آلوده به سل درمان نشود قادر است به طور میانگین 10 تا 15 نفر دیگر را هر ساله آلوده نماید(۲،۱).

یک سوم مردم جهان به باکتری مایکوباکتریوم توبرکلوزیس آلوده بوده و حدود 2 میلیون نفر سالیانه در اثر بیماری سل جان خود را از دست می‌دهند. طی سال‌های اخیر، بروز و گسترش مقاومت داروئی، این بیماری را در ردیف ایدز و هپاتیت در اولویت‌های سازمان بهداشت جهانی قرار داده است(1). درمان ضد سل با تولید آنتی‌بیوتیک‌هایی مثل ایزونیازید، ریفامپین و پیرازینامید که در مقابل سل موثر هستند انجام شد ولیکن نتوانست بیماری را ریشه کن کند. هم‌چنین استفاده گسترده از واکسن BCG که واکسن سویه ضعیف شده مایکوباکتریوم بوویس است، نتوانسته میزان بروز بیماری را در سال‌های اخیر کاهش دهد. در سال 1993 این بیماری از سوی سازمان بهداشت جهانی به عنوان اورژانس جهانی مطرح گردید(2).

در حال حاضر میزان بروز کل موارد سل در کشور 20 مورد به ازای یک صد هزار نفر جمعیت ثبت و گزارش شده است. همسایگی ایران با دو کشور افغانستان و پاکستان که در زمره 22 کشور مطرح دنیا در زمینه سل هستند و هم‌چنین عراق و کشورهای تازه استقلال یافته (با شیوع بالای سل مقاوم به چند دارو) ضرورت توجه بیش از پیش ما را به این بیماری متذکر می‌کند(3). تشخیص سریع و شیمی درمانی مناسب اولین اقدام برای کنترل اپیدمی‌های سل است.

مایکوباکتریوم‌ها، باکتری‌های هوازی و باسیلی شکل هستند که اسپور تشکیل نمی‌دهند و در برابر از دست دادن رنگ به وسیله اسید یا الکل مقاومت می‌کنند، از این رو اسید فست نامیده می‌شوند. مایکوباکتریوم‌ها، باکتری‌های داخل سلولی می‌باشند که داخل ماکروفاژها زندگی می‌کنند و سرعت رشد کمی دارند. جهت رنگ آمیزی باکتری مایکوباکتریوم توبرکلوزیس از روش زیل - نلسون استفاده می‌شود.(4).

برای کنترل بهینه بیماری سل، لازم است که ژنتیک و فیزیولوژی مایکوباکتریوم توبرکلوزیس و نحوه غلبه باکتری‌ها بر دفاع میزبان و ایجاد بیماری مورد مطالعه دقیق قرار گیرد. رخداد اندک جهش‌های خنثی در ژن‌های ساختاری آشکار می‌کند که مایکوباکتریوم توبرکلوزیس از نظر تکاملی جوان است و اخیراً انتشار جهانی یافته است. تنوع گونه‌ها در مایکوباکتریوم توبرکلوزیس به مقدار زیادی در اثر Insertion sequences است. حرکت قطعات متحرک، فرآیند اصلی در تولید تنوع ژنومی در این پاتوژن است. تکامل مولکولی فرایندی از تکامل در مقیاس DNA بوده و شامل موتاسیون‌هایی هستند که باعث تغییر در فراوانی الل‌ها می‌شوند. پلی‌مورفیسم نوکلئوتیدهای مترادف (synonymous single nucleotide polymorphism- sSNP) در مایکوباکتریوم توبرکلوزیس برای مطالعات تکاملی استفاده شده است(5، 6).

سرواتسان و همکاران، 26 ژن ساختاری را در 842 نمونه کلینیکی جدا شده از بیماران مسلول بررسی کردند. طی این بررسی فقط در دو کدون پلی‌مورفیسم مترادف (جهشی که باعث تغییر نوع اسید آمینه نمی‌شود – جهش خاموش) مشاهده کردند. آنها یک طبقه‌بندی تکاملی برای سویه‌های کلینیکی مایکوباکتریوم توبرکلوزیس براساس تغییر در کدون‌های GyrA 95 و KatG463 پیشنهاد کردند که در آن سویه‌های مایکوباکتریوم توبرکلوزیس به سه دسته تقسیم می‌شوند. این دو سایت در مقاومت آنتی‌بیوتیکی شرکت ندارند، از این رو به عنوان مارکرهای ژنتیکی استفاده می‌شوند که در بر گیرنده تاریخچه تکاملی ارگانیسم می‌باشد(7).

اساس تمایز سویه‌ها به سه گروه اصلی ژنتیکی (Principle Genetic Groups- PGG) بر اساس پلی مورفیسم در دو ژن می‌باشد. سویه‌های متعلق به گروه یک

Archive of SID

www.SID.ir

(PGG1) شامل سویه‌هایی با بیماری‌زائی بیشتر و دارای مقاومت داروئی به یک یا چند دارو هستند. تعیین سویه‌های متعلق به این گروه و به ویژه تشخیص سریع آن، دارای اهمیت ویژه اپیدمیولوژیک می‌باشد. ژنوتیپ 2 و3 از نظر تکاملی جوان‌تر از ژنوتیپ 1 بوده و در برخی کشورها مسئول گسترش بیماری محسوب می‌شوند(8).

سویه‌های مایکوباکتریوم توبرکلوزیس بر اساس پلی مرفیسم موجود در ژن‌های کد کننده کاتالاز پراکسیداز (*katG*) کدون 463 و ژن کد کننده زیر واحد A آنزیم DNA Gyrase (*gyrA*) کدون 95 به 3 گروه ژنتیکی مختلف تقسیم می‌شوند(9).

KatG463 CTG (Leu), GyrA95 ACC (Thr)-1

KatG463 CGG (Arg), GyrA95 ACC (Thr)-2

KatG463 CGG (Arg), GyrA95 AGC (Ser)-3

تنوع در کدون463 از ژن *katG* وکدون 95 از ژن *gyrA* به مقدار زیاد وجود دارد. این دو سایت در مقاومت آنتی‌بیوتیکی شرکت ندارند، از این رو به عنوان مارکرهای ژنتیکی استفاده می‌شوند که تاریخچه تکاملی ارگانیسم را ثبت می‌کنند.

تمام اعضای مایکوباکتریوم توبرکلوزیس به سه گروه ژنتیکی مختلف براساس پلی مورفیسم در این دو سایت تقسیم می‌شوند. گروه 2 و3 از نظرتکاملی جوان‌تر از گروه 1 هستند.

پلی‌مورفیسم موجود در کدون KatG463 به وسیله تعیین توالی DNA، روشPCR-RFLP با آنزیم برشگر Nci I یا Msp I ، هیبریداسیون dot-blot و هم‌چنین real-time PCR شناسایی شده و پلی‌مورفیسم موجود در کدون 95 ژن *gyrA* با تعیین توالی DNA تعیین می‌گردد(7، 10).

هدف این مطالعه دسته‌بندی سویه‌های مایکوباکتریوم توبرکلوزیس جدا شده از بیماران مسلول استان مرکزی بر اساس گروه‌های اصلی ژنتیکی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه مقطعی، سی و سه نمونه خلط از بیماران مسلول استان مرکزی جمع‌آوری گردید. نمونه‌های جدا شده در سطح محیط کشت لون‌اشتاین‌جانسون (Lowenstein-Jensen) کشت داده شدند. لوله‌های کشت در انکوباتور 37 درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و بعد از 4 هفته رشد باکتری بررسی گردید.

جهت استخراج DNA از روش Chelex 100 استفاده شد. به طور خلاصه4-3 کلنی جوان در 270 میلی‌لیتر بافر TAE (1x) محتوی 70 میلی‌گرم Chelex 100 حل گردید. در مرحله بعد به مدت 45 دقیقه در 97 درجه سانتی‌گرادگرمادهی شد. سپس سه مرتبه سانتریفوژ با دور 14000 به مدت 10 دقیقه (به منظور حذف Chelex) انجام شد.

انجام PCR-RFLP:

در این مطالعه شناسایی نمونه‌ها با تشخیص ژن katG باکمک PCR مورد تایید قرارگرفت.

از پرایمرهای katG904 وkatG1523 برای تکثیر قطعه 620bp از katG استفاده شد(11). واکنشPCR در حجم نهائی 50 میکرولیتر صورت گرفت. سیکل حرارتی برای تکثیرkatG شامل 45 سیکل به صورت 94 درجه سانتی‌گراد به مدت 1 دقیقه، 60 درجه سانتی‌گراد به مدت 1دقیقه و 72 درجه سانتی‌گراد به مدت 1 دقیقه و سیکل نهایی 72 درجه سانتی‌گراد به مدت 10 دقیقه بود. وجود قطعه 620 bp در محصول PCR با کمک الکتروفورز روی ژل اثبات گردید.

علاوه بر این، موتاسیون درکدون 463 KatG با کمک RFLP و با استفاده ازآنزیم برشگر HpaII (محل برش C:CGG) انجام شد. بدین منظور 12 میکرولیتر از محصول PCR با 5 واحد اندونوکلئاز HpaII برش داده شد و محصولات حاصل از هضم آنزیم بر روی ژل پلی آکریل آمید 12 درصد الکتروفورز گردید.

تعیین توالیDNA:

برای اثبات موتاسیون نقطه‌ای در GyrA95 از روش تعیین توالی استفاده شد. بدین منظور قطعه 194 bp از

Archive of SID

www.SID.ir

ژن *gyrA* تکثیر و سپس محصول PCR برای انجام سکوانس به شرکت زیست فن آوری کوثر ارسال گردید.

یافته‌ها

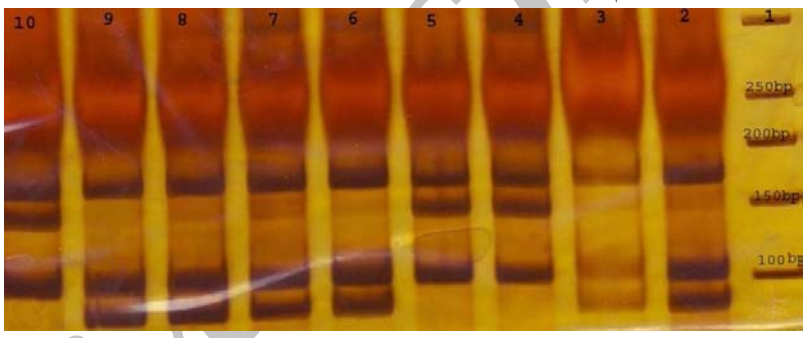
در فرآیند استخراج DNA، استفاده از Chelex 100 نتایج بسیار خوبی به دنبال داشت. این روش، سریع، ساده و در عین حال دقیق به نظر می‌رسد.

تشخیص مولکولی باکتری

نمونه‌های مثبت برای قطعه 620-bp ژن *katG* به عنوان مایکوباکتریوم توبرکلوزیس شناسایی شدند. این مسئله از نظر فنوتیپی نیز انطباق کامل نشان داد. این بخش از تست جهت تعیین ماهیت سریع (تشخیص مولکولی مایکوباکتریوم توبرکلوزیس در نمونه) مورد استفاده قرار گرفت.

نتایج **PCR-RFLP:**

محصول PCR ژن *katG* قطعه bp620 است. نتیجه هضم این قطعه در نمونه‌های مختلف، متفاوت بوده و الگوهای متنوعی را نشان می‌دهد. نتایج این یافته‌ها در شکل 1 نشان داده شده است.

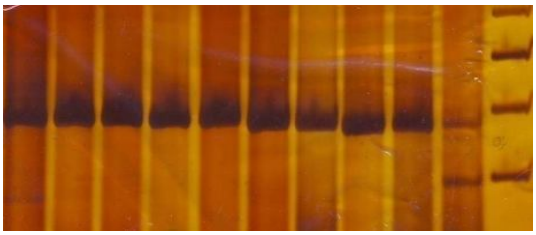


شکل1. الگوهای RFLPژن *katG* پس از برش توسط آنزیم Msp I

همان طور که در شکل 1 مشخص است، نمونه‌های شماره 1،7 و 8 نشان دهنده الگوی A و نمونه‌های شماره 6-3 و 9 و 10 نشان دهنده الگوی B است. تفسیر الگوهای مذکور ارائه شده‌اند. همان گونه که در جدول یک مشاهده می‌شود، الگوی A به مفهوم عدم رخداد و الگوی B به معنی وجود جهش در KatG463 می‌باشد.

هم‌چنین از الگوهای به دست آمده، رخداد جهش در کدون KatG315 نیز استنباط گردید. بدین ترتیب مقاومت یا حساسیت نمونه‌ها به آنتی‌بیوتیک ایزونیازید نیز مشخص شدند. همان گونه که از جدول یک قابل استنباط است، تمامی سویه‌ها فاقد جهش در کدون KatG315 بودند (ژنوتیپ حساس به دارو). جهش در کدون KatG463 صرفا یک پلی مورفیسم است که همراه با بررسی کدون GyrA95 در تعیین گروه ژنتیکی باکتری کاربرد داشته و در ایجاد مقاومت داروئی نقشی ندارد ولی جهش در کدون وابسته به مقاومت به ایزونیازید می‌باشد.

محصول PCR ژن *gyrA* ، قطعه 194bp است که در شکل 2 برای تعدادی از سویه‌ها نشان داده شده است. این قطعه جهت تعیین جهش در GyrA95 برای تعیین توالی ارسال گردید.



شکل2. ژل الکتروفورز قطعه bp194 حاصل از *gyrA*

Archive of SID

www.SID.ir

نتایج تعیین توالی DNA

اجرای تعیین توالی در ژن *katG* در سویه‌های انتخاب شده به صورت تصادفی، انطباق کامل نتایج PCR-RFLP را با سکونس نشان داد.

بررسی نتایج ترادف ژن *gyrA*، وجود جهش در کدون 95 این ژن را در تعدادی از سویه‌های مورد مطالعه اثبات نمود. نتایج در جدول 1 ارائه شده‌اند.

جدول 1. نتایج تعیین پلی مورفیسم ژن‌های مورد مطالعه و گروه بندی سویه ها

ردیف	نمونه	الگو	kat G315	kat G463	gyrA95	گروه ژنتیکی
1	1	A	-	-	+	2
2	2	B	-	+	-	1
3	3	A	-	-	+	2
4	4	A	-	-	+	2
5	55	A	-	-	-	3
6	6	A	-	-	+	2
7	7	B	-	+	-	1
8	8	B	-	+	-	1
9	9	A	-	-	-	3
10	10	A	-	-	+	2
11	11	B	-	+	-	1
12	12	A	-	-	+	2
13	13	A	-	-	+	2
14	14	B	-	+	-	1
15	15	A	-	-	+	2
16	16	B	-	+	-	1
17	17	A	-	-	+	2
18	19	B	-	+	-	1
19	20	A	-	-	+	2
20	21	A	-	-	-	3
21	23	A	-	-	+	2
22	24	A	-	-	-	3
23	25	B	-	+	-	1
24	26	B	-	+	-	1
25	27	A	-	-	+	2
26	28	B	-	+	-	1
27	29	A	-	-	+	2
28	30	A	-	-	+	2
29	32	A	-	-	+	2
30	33	A	-	-	-	3
31	34	B	-	+	-	1
32	35	B	-	+	-	1
33	36	A	-	-	-	3

تعیین گروه های اصلی ژنتیکی

از میان 33 ایزوله مایکوباکتریوم توبرکلوزیس مورد مطالعه، 12 نمونه الگوی ژنتیکی یک (فراوانی 36/3 درصد)، 15 نمونه الگوی ژنتیکی دو(فراوانی 45/5 درصد) و 5 نمونه الگوی ژنتیکی 3 (فراوانی 18/2 درصد) را نشان دادند.

بدین ترتیب بیشترین فراوانی مربوط به گروه ژنتیکی دو به عنوان گروه غالب می‌باشد.

بحث

ساختار ژنتیکی سویه‌های مایکوباکتریوم توبرکلوزیس جدا شده از بیماران در شهر اراک نشان داد که این سویه‌ها به طور عمده متعلق به گروه اصلی ژنتیکی دو (PGG 2) می‌باشند (فراوانی 45/5 درصد).

بررسی نتایج تحقیق دیگری در این رابطه، نشان داد که در بین "سویه‌های مقاوم" به دارو، بیشترین فراوانی مربوط به گروه اصلی ژنتیکی 1 می‌باشد(8). این مفهوم ارتباط میان مقاومت دارویی و وابستگی به گروه 1 را نشان می‌دهد. عملاً رخداد گروه یک در سویه‌های مقاوم بسیار گسترده‌تر از گروه دو و سه می‌باشد. در تحقیق حاضر - که تمامی سویه‌ها "حساس" به دارو بودند – فراوانی گروه 1 معادل 36 درصد و دو گروه دو و سه جمعاً 64 درصد بود.

سویه بیجینگ یکی از زیرگروه‌های اصلی گروه ژنتیکی یک بوده و بر اساس مطالعات مختلف، اثبات شده است که این سویه با مقاومت دارویی و پراکنش بیماری ارتباط مستقیمی دارد. این سویه از مقاومت بالایی نسبت به چند دارو برخوردار بوده و قدرت انتقال بسیار سریعی دارد.

در سال‌های اخیر این سویه به دلیل قدرت انتقال بالا و مقاومت چندگانه آن بسیار مطرح شده است. این سویه برای اولین بار در سال 1995 در چین و کشورهای همسایه آن شناسایی شد(12) و شیوع بالای آن در آسیا به خصوص آسیای شرقی نیز گزارش شده است. گزارشات به دست آمده حاکی از آن است که میزان شیوع این سویه در روسیه و اروپا و آمریکا متنوع می‌باشد(12، 13). در یک

Archive of SID

www.SID.ir

گزارش در ایران، 7 درصد بیماران ریوی در سال 2005 به عنوان سویه بیجینگ گزارش شده‌اند(14، 15). لذا تعیین سریع میزان وابستگی سویه‌ها به گروه یک اهمیت ویژه دارد.

این تحقیق، روشی سریع برای اثبات تعلق سویه‌ها به یکی از سه گروه اصلی ژنتیکی را ارائه نمود.

تست تعیین گروه‌های ژنتیکی شامل دو مرحله اصلی بوده که در مرحله اول، با تعیین وجود قطعه مربوط به ژن *katG*، مایکوباکتریوم توبرکلوزیس تعیین هویت می‌گردد.با کمک این روش، سویه مورد نظر، سریعاً از سویه‌های غیر توبرکلوزیس (Mycobacterium other than Tuberculosis MOTT) که در نمونه خلط یافت می‌شوند، جدا می‌گردد.

در مطالعه رفیع و همکاران در ارتباط با مقاومت داروئی سویه‌های مایکوباکتریوم غیرتوبرکلوزی، نتایج حاصله بیان‌گر آن بود که در مجموع، 40 درصد سویه مایکوباکتریوم غیرتوبرکلوزی مقاوم به داروهای رده اول، نسبت به افلوکساسین و 30 درصد سویه‌های مذکور نسبت به سیپروفلوکساسین مقاوم بودند. این باکتری‌ها از بیماران توبرکلوزی مراجعه کننده به مرکز تحقیقات سل و بیماری‌های ریوی تبریز جدا شده بودند(16).

این مسئله، رخداد سویه‌های غیرتوبرکلوزی در بروز بیماری سل را اثبات می‌نماید. سویه‌های MOTT باعث کاهش حساسیت و ویژگی در بررسی اسمیر می‌گردند. در حال حاضر، با توجه به طولانی بودن زمان کشت نمونه (حدود یک ماه) پروتکل درمانی سل روی هر بیمار، با مثبت شدن اسمیر قطعیت پیدا می‌کند. این سویه‌ها به دلیل شباهت ظاهری و اسید فست بودن، در بررسی اسمیر ایجاد اشتباه می‌کنند. لذا تفکیک سریع سویه‌های عامل بیماری در نمونه اخذ شده از بیمار، به ویژه هنگام بررسی اسمیر، اهمیت زیادی دارد.

علاوه بر این، ویژگی سوم این روش، تعیین هم‌زمان جهش در کدون katG315 است. جهش در این کدون وابستگی مستقیم با مقاومت به ایزونیازید دارد. این وابستگی در مطالعات مختلف از جمله گزارشات فرنیا و همکاران(17) و توکلی(18) در ایران اثبات شده است.

در این مطالعه اثبات گردید که هیچ کدام از سویه‌های مورد مطالعه (همگی حساس به ایزونیازید) دارای جهش در katG315 نبودند (ویژگی 100 درصد). این مسئله تائیدی بر وابستگی مقاومت فنوتیپی به ژنوتیپ موتان بود.

با توجه به اهمیت روش، جهت حذف مرحله تعیین توالی gyrA95، آزمایشات جهت تعیین این جهش با روش‌های با پایه PCR در آزمایشگاه محل اجرای این تحقیق ادامه دارد.

نتیجه گیری

روش ارائه شده، به صورت هم‌زمان سه ویژگی مهم در نمونه را مورد ارزیابی قرار می‌دهد: تائید مولکولی ماهیت باکتری (و متعاقباً تائید وجود بیماری سل)، تعیین گروه ژنتیکی سویه و تعیین سریع مقاومت سویه به ایزونیازید. این مسئله نقش مهمی در تشخیص سریع و تجویز آنتی‌بیوتیک مناسب و از طرف دیگر اپیدمیولوژی بیماری و تعیین استراتژی‌های مناسب کنترل از دیدگاه سلامت جامعه را دارد.

تشکر و قدردانی

این پژوهش بخشی از طرح تحقیقاتی مصوب دانشگاه علوم پزشکی اراک و هم‌چنین قسمتی از پایان‌نامه دانشجویی خانم آرزو عشقی نژاد دانشجوی دوره کارشناسی ارشد می‌باشد؛ لذا بدین وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک تشکر و قدردانی به عمل می‌آید. هم‌چنین از معاونت پژوهشی دانشگاه و مرکز تحقیقات پزشکی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی اراک به دلیل پشتیبانی تجهیزات و امکانات و از کلیه همکارانی که ما را در این پژوهش یاری نموده‌اند صمیمانه تشکر و قدردانی می‌نماییم.

Archive of SID

www.SID.ir

منابع

1. Palomino JC, Leao SC, Ritacco V. Tuberculosis 2007; from basic science to patient care. 2007.
2. Nasr Esfahani B. Tuberculosis: Isfahan University of Medical Sciences.2010.[persian]
3. CDC.gov [homepage on the Internet]. Atlanta: Extensively Drug-Resistant Tuberculosis (XDR TB). [July 19, 2012]. Available from: http://www.cdc.gov/tb/.
4. Cook GM, Berney M, Gebhard S, Heinemann M, Cox RA, Danilchanka O, et al. Physiology of mycobacteria. Advances in microbial physiology. 2009; 55: 81-319.
5. World Health Organization. Global Health Atlas. Available from: http://apps.who.int/globalatlas/.
6. Velayati A, Farnia P, Masjedi M, Ibrahim T, Tabarsi P, Haroun R, et al. Totally drug-resistant tuberculosis strains: evidence of adaptation at the cellular level. European Respiratory Journal. 2009; 34(5): 1202-3.
7. Sreevatsan S, Pan X, Stockbauer KE, Connell ND, Kreiswirth BN, Whittam TS, et al. Restricted structural gene polymorphism in the Mycobacterium tuberculosis complex indicates evolutionarily recent global dissemination. Proceedings of the National Academy of Sciences. 1997; 94(18): 9869-74.
8. Setareh M, Titov L, Surkova L. High level association of mutation in KatG315 with MDR and XDR clinical isolates of Mycobacterium tuberculosis in Belarus. Acta microbiologica et immunologica Hungarica. 2009; 56(4):313-25.
9. Kong Y, Cave M, Zhang L, Foxman B, Marrs C, Bates J, et al. Association between Mycobacterium tuberculosis Beijing/W lineage strain infection and extrathoracic tuberculosis: insights from epidemiologic and clinical characterization of the three principal genetic groups of M. tuberculosis clinical isolates. Journal of Clinical Microbiology. 2007; 45(2): 409-14.
10. Lari N, Rindi L, Sola C, Bonanni D, Rastogi N, Tortoli E, et al. Genetic diversity, determined on the basis of katG463 and gyrA95 polymorphisms, Spoligotyping, and IS6110 typing, of Mycobacterium tuberculosis complex isolates from Italy. Journal of Clinical Microbiology. 2005; 43(4): 1617-24.
11. Leung ETY, Kam KM, Chiu A, Ho PL, Seto WH, Yuen KY, et al. Detection of katG Ser315Thr substitution in respiratory specimens from patients with isoniazid-resistant Mycobacterium tuberculosis using PCR-RFLP. Journal of medical microbiology. 2003; 52(11): 999-1003.
12. Van Soolingen D, Qian L, De Haas P, Douglas JT, Traore H, Portaels F, et al. Predominance of a single genotype of Mycobacterium tuberculosis in countries of east Asia. Journal of Clinical Microbiology. 1995; 33(12): 3234-8.
13. Sun JR, Lee SY, Dou HY, Lu JJ. Using a multiplex polymerase chain reaction for the identification of Beijing strains of Mycobacterium tuberculosis. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases. 2009; 28(1): 105-7.
14. Rohani M, Farnia P, Nasab MN, Moniri R, Torfeh M, Amiri M. Beijing genotype and other predominant Mycobacterium tuberculosis spoligotypes observed in Mashhad city, Iran. Indian Journal of Medical Microbiology. 2009; 27(4): 306.[persian]
15. Goudarzi H, Jahani Sherafat S, Farnia P, Mirsamadi ES. Identification of Beijing Strains of Mycobacterium Tuberculosis in Pulmonary Tuberculosis Patients with Culture Positive Specimens Using Multiplex PCR Method. Ofogh-e-Danesh Journal. 2010; 16(2): 18-23.[persian]
16. Rafi A, Moaddab S, Radmehr R. Drug resistance study of Mycobacterium tuberculosis strains and mycobacteria other than tubercle bacilli strains to ofloxacin and ciprofloxacin isolated from patients admitted to research center for TB and pulmonary diseases of Tabriz. Pharmaceutical Sciences. 2009; 15(3): 241-6.[persian]
17. Dinmohammadi F, Farnia P, Biglari A, Kazempoor M, Ramazanzadeh R, Masjedi MR, et al. Identification of the mutations related to resistance of mycobacterium tuberculosis to isoniazid by use of PCR-RFLP in TB patients.

Archive of SID

www.SID.ir

Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences. 2010; 14(4): 1-9.
18. Mohajeri P, Tavakoli A, Moghim S. Detection of Mutation in Codon 315 katG Gene as a Gene Marker Associated with Isoniazid Resistance, in Mycobacterium tuberculosis Strains Isolated from Patients in Isfahan and Tehran by PCR-RFLP Method. Journal of Zanjan university of medical sciences and health services. 2009; 17(66): 29-40.[persian]

Archive of SID

www.SID.ir