

بررسی شیوع مایکوباکتریوم های غیر توبرکلوزیس در بیماران مراجعه کننده به آزمایشگاه رفرانس سل کشوری

زهرا درخشانی نژاد^۱، پریسا فرنیان^۲، فاطمه مریم شیخ الاسلامی^۳، مونا افزایی کرهرودی^۴، محدثه مظفری^۵، شیماسیف^۶، کیمیا تقوی^۱، رشید رمضان زاده^۱، محمد رضا مسجدی^۱، علی اکبر ولایتی^۱

۱. کارشناس ارشد میکروبیولوژی، پژوهشگر مرکز تحقیقات مایکوباکتریولوژی، پژوهشکده سل و بیماریهای ریوی، مرکز آموزشی، پژوهشی و درمانی سل و بیماریهای ریوی بیمارستان دکتر مسیح دانشوری، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی شهید بهشتی (مولف مسئول) تلفن: ۰۲۱-۲۷۱۲۲۲۵۹
sh_derakhshani@yahoo.com

۲. دانشیار گروه میکروبیولوژی، مرکز تحقیقات مایکوباکتریولوژی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات درمانی شهید بهشتی، تهران، ایران

۳. دکترای انگل شناسی، پژوهشگر مرکز تحقیقات مایکوباکتریولوژی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات درمانی شهید بهشتی، تهران، ایران

۴. دانشیار مرکز تحقیقات سلولی- مولکولی و گروه میکروبیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات درمانی کردستان، سنندج، ایران

۵. استاد گروه داخلی، پژوهشکده سل و بیماریهای ریوی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات درمانی شهید بهشتی، تهران، ایران

۶. استاد گروه اطفال، پژوهشکده سل و بیماریهای ریوی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات درمانی شهید بهشتی، تهران، ایران

چکیده

زمینه و هدف: با توجه به اهمیت افزایش بیماری های ناشی از مایکوباکتریوم های غیر سلی در سرتاسر جهان، ما مطالعه ای را به منظور ارزیابی بسامد این بیماری ها در منطقه خود انجام داده ایم. هدف از مطالعه حاضر شناسایی و بررسی میزان شیوع مایکوباکتریوم های غیر سلی در ایران از نمونه های مختلف بالینی، طی یک دوره ۸ ساله در بیمارستان مسیح دانشوری بوده است.

روش بررسی: این مطالعه به صورت توصیفی بر روی ۸۳۲۲ نمونه جدا شده از بیماران با علائم سل ریوی طی سال های ۹۰-۸۳ در مرکز تحقیقات مایکوباکتریولوژی انجام گردید. برای شناسایی گونه های مایکوباکتریوم ابتدا یک قطعه ۱۹۰bp از ژن IS6110 با استفاده از پرایمرهای Tb1 و Tb2 تکثیر گردید. نمونه هایی که دارای نتیجه PCR بر مبنای IS6110 منفی بودند به منظور بررسی مایکوباکتریوم های غیر سلی با استفاده از ژن hsp65 با روش PCR-RFLP مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

یافته ها: از کل ۸۳۲۲ نمونه، (۱/۵٪) ۱۲۴ سویه NTM مشخص گردید. میانگین سنی بیماران NTM مورد مطالعه $57 \pm 18/9$ سال (با رنج سنی ۷-۸۸ سال) بود و همین طور غالب این بیماران (۵۵/۶٪) مرد بودند. رایج ترین گونه های شناسایی شده در این مطالعه، شامل مایکو باکتریوم سیمیایی (۴۴/۳٪)، مایکوباکتریوم چلوننی (۱۶/۹٪) و مایکوباکتریوم کانزاسی (۱۲/۹٪) بودند.

نتیجه گیری: در این بررسی ما شیوع بالایی از مایکوباکتریوم سیمیایی را میان بیماران مشاهده کردیم. با توجه به این که پروتکل درمانی در مورد مایکوباکتریوم های غیر سلی با مایکوباکتریوم توبرکلوزیس کمپلکس متفاوت می باشد بنابراین تشخیص این گونه ها در اسرع وقت اهمیت قابل توجهی برای پزشکان در بر خواهد داشت.

واژه های کلیدی: NTM، مایکوباکتریوم های غیر سلی، hsp65.

وصول مقاله: ۹۱/۱۱/۲ اصلاحیه نهایی: ۹۲/۸/۲۸ پذیرش: ۹۲/۱۱/۱۳

مقدمه

نگرانی های فزاینده ای در مورد مایکوباکتریوم های غیرسل (NTM¹) موجود در محیط زیست وجود دارد (۱). با توجه به پیشرفت و توسعه روش های مولکولی، گونه های فراوانی از این مایکوباکتریوم ها شناسایی شده است (۲). مایکوباکتریوم های غیر سل (NTM)، اغلب با عناوین مایکوباکتریوم های محیطی، مایکوباکتریوم های آتیبیک و مایکوباکتریوم های غیر از توپرکلوزیس (MOTT²) شناخته شده اند. در میان این عناوین، عنوان NTM به نظر قابل قبول تر می رسد، که در اظهارات انجمن بیماری های ریوی آمریکا (ATS³) بیان شده است (۳و۴).

انتقال این مایکوباکتریوم ها از انسان به انسان به ندرت رخ می دهد با این حال در صورتی که این انتقال رخ دهد این ارگانیسم ها می توانند منجر به ایجاد عوارض جدی شوند (۵و۶). مایکو باکتریوم های آتیبیک در سال ۱۹۵۰ توسط راینون، براساس سرعت رشد و تولید رنگدانه طبقه بندی شدند (۷و۸). بر این اساس مایکوباکتریوم های غیر سل به ۴ گروه دسته بندی می شوند، گروه I تا III سریع الرشد و گروه IV که کند رشد هستند (۹). این ارگانیسم ها عامل ایجاد کننده ۴ بیماری بالینی مجزا هستند که شامل بیماری ریوی پیش رونده، لنفادنیت سطحی، بیماری های منتشره، عفونت پوست و بافت نرم است (۱۰). بیماری های ریوی و سایر بیماری های ناشی از این مایکوباکتریوم ها، هم اکنون در بسیاری از نقاط دنیا شناخته شده است، تقریباً ۸۰ درصد از بیماران مبتلا به عفونت های ناشی از مایکوباکتریوم های غیر سل خانم های میانسال و یا مسن هستند (۱۱). مایکوباکتریوم های غیر سل در ۳۰ سال گذشته به طور چشم گیری با بیماری های ریوی در انسان همراه شده اند (۱۲). این عفونت ها نیاز به درمانی دارند که در قیاس با درمان سل دو یا سه دوره زمان بیشتری را نیاز دارد (۱۳).

هزینه های درمان قابل مقایسه با دیگر بیماری های مزمن عفونی نظیر HIV/AIDS است، در حالی که سل با دارو های چند گانه در مدت ۶ ماه درمان می شود، عفونت ریوی ناشی از NTM نیاز به ۱۸ تا ۲۴ ماه درمان دارد. هزینه درمان برای هر بیمار احتمالاً ۳ یا ۴ برابر درمان توپرکلوزیس است (۱۴). مطالعه ای که اخیراً در ایران توسط بقایی و همکاران بر روی بیماران ریوی انجام گردید، نشان داد که شایع ترین مایکوباکتریوم غیر توپر کلوزیس جدا شده از بیماران، مایکوباکتریوم سیمیایی^۴ بوده است (۱۵).

با توجه به اهمیت افزایش بیماری های ناشی از مایکوباکتریوم های غیر سل در سرتاسر جهان، ما مطالعه ای را به منظور ارزیابی بسامد این بیماری ها در منطقه خود انجام داده ایم. هدف از مطالعه حاضر شناسایی و بررسی میزان شیوع مایکوباکتریوم های غیر سل در ایران از نمونه های مختلف بالینی، طی یک دوره ۸ ساله در بیمارستان مسیح دانشوری است.

روش بررسی

مطالعه حاضر به صورت توصیفی بر روی ۸۳۲۲ نمونه جدا شده از بیماران با علائم سل ریوی طی سال های ۹۰-۸۳ در مرکز تحقیقات مایکوباکتریولوژی انجام گردید. نمونه ها از اکثر استان های کشور خصوصاً استان های واقع در مرکز، غرب و جنوب غرب و همچنین استان های شمالی و جنوبی جهت انجام تست های مایکوباکتریایی و تایید ابتلا آن ها به آزمایشگاه رفرانس سل کشور ارسال گردید.

جداسازی اولیه سویه های مایکوباکتریوم با روش پتروف و با استفاده از محیط لون اشتاین جانسن^۵ انجام شد (۱۶). در مرحله ی بعد DNA مایکوباکتریوم از نمونه های خلط بیماران با استفاده از کیت کیزن (QiAamp DNA

⁴ Mycobacterium simiae

⁵ Lowenstein Jensen

¹ Non Tuberculosis Mycobacteria

² Mycobacteria other than Tuberculosis

³ American Thoracic Society

نمونه هایی که از نظر IS6110 مثبت بودند به عنوان کمپلکس مایکوباکتریوم تویرکلوزیس تلقی شدند. نمونه هایی که دارای نتیجه PCR بر مبنای IS6110 منفی بودند. به منظور بررسی مایکوباکتریوم های غیر سلی با استفاده از ژن hsp65 با روش PCR-RFLP مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. تکثیر این ژن با استفاده از یک Nested-PCR انجام گردید که در مرحله اول آن جفت پرایمر Tb15: 5'-CGT AYG ACG AAG AGG و Tb17: 5'-WAS GGR TCC و CCC GT 3' -3' TCS AGG ACS GC مورد استفاده قرار گرفت. میکس PCR با حجم نهایی ۵۰ میکرولیتر حاوی ۴ پیکو مول از پرایمر Tb15 و پرایمر Tb17، ۱/۵ میلی مولار کلرید منیزیم، ۱ واحد از آنزیم Taq پلی مرز (شرکت سیناژن)، ۰/۲ میلی مولار dNTP، ۱/۵ میلی مولار از بافر ۱۰X و ۱٪ از DMSO استفاده گردید. واکنش PCR در دستگاه ترمال سایکلر (استک^۷ ژاپن) به شرح زیر می باشد:

سیکل اول ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه جهت دناتوراسیون اولیه که توسط ۳۵ سیکل شامل ۹۳ درجه سانتی گراد بیست ثانیه، ۶۵ درجه سانتی گراد یک دقیقه و ۷۲ درجه سانتی گراد بیست ثانیه ادامه یافته و سیکل آخر به مدت ۵ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی گراد جهت طویل سازی نهایی انجام گردید.

و محصولات واکنش PCR، بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد حاوی اتیدیوم بروماید بارگذاری و بررسی گردید (۱۷) (شکل ۱).

مرحله دوم با استفاده از جفت پرایمر Tb11: 5'ACCAACGATGGTGTGTCCA 3' و Tb12: 5'CTTGTCGAACCGCATAACCT و 3' انجام گردید (۱۸).

واکنش PCR با حجم ۵۰ میکرولیتر حاوی ۸ پیکومول از پرایمر Tb11 و Tb12، ۱/۵ میلی مولار کلرید منیزیم، ۱ واحد از آنزیم Taq پلی مرز (شرکت سیناژن)، ۰/۲ میلی-مولار dNTP، ۱/۵ میلی مولار از بافر ۱۰X و ۲٪ از DMSO استفاده گردید.

شرایط دمایی واکنش به صورت مقابل بود: سیکل اول ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه جهت دناتوراسیون اولیه که توسط ۳۰ سیکل شامل ۹۴ درجه سانتی گراد سی ثانیه، ۵۶ درجه سانتی گراد ۱ دقیقه و ۷۲ درجه سانتی گراد ۴۰ ثانیه ادامه یافت و سیکل آخر ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه انجام گردید. در نهایت قطعات تکثیر یافته حاصل از PCR بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد الکتروفورز و باند

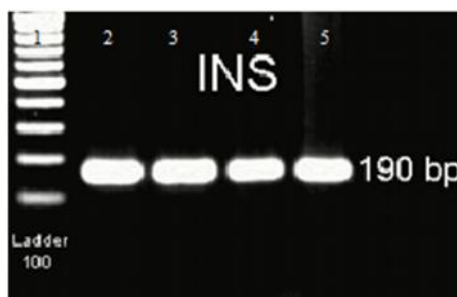
(Mini) براساس دستور العمل شرکت سازنده استخراج گردید.

برای شناسایی گونه های مایکوباکتریوم ابتدا یک قطعه ۱۹۰bp از ژن IS6110 با استفاده از پرایمرهای Tb1: 5'- ATC CTG CGA GCG TAG GCG TCG و Tb2: 5'- CAG GAC CAC GAT و G -3' -3' CGC TGA TCC GG تکثیر گردید. میکس PCR با حجم نهایی ۵۰ میکرولیتر حاوی ۸ پیکومول از پرایمر Tb1 و پرایمر Tb2، ۱/۵ میلی مولار کلرید منیزیم، ۱ واحد از آنزیم Taq پلی مرز (شرکت سیناژن)، ۰/۲ میلی مولار dNTP، ۱/۵ میلی مولار از بافر ۱۰X و ۲٪ از DMSO استفاده گردید. واکنش PCR در دستگاه ترمال

سایکلر (استک^۷ ژاپن) به شرح زیر می باشد:

سیکل اول ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه جهت دناتوراسیون اولیه که توسط ۳۵ سیکل شامل ۹۳ درجه سانتی گراد بیست ثانیه، ۶۵ درجه سانتی گراد یک دقیقه و ۷۲ درجه سانتی گراد بیست ثانیه ادامه یافته و سیکل آخر به مدت ۵ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی گراد جهت طویل سازی نهایی انجام گردید.

و محصولات واکنش PCR، بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد حاوی اتیدیوم بروماید بارگذاری و بررسی گردید (۱۷) (شکل ۱).



شکل ۱. الگوی حاصل از تکثیر PCR-IS6110

ستون ۱ مارکر ۱۰۰ bp، ستون های ۲ تا ۴ قطعات تکثیر شده ۱۹۰ bp، ستون ۵ سوش استاندارد H37RV

⁵ Sinagen
⁷ Astec

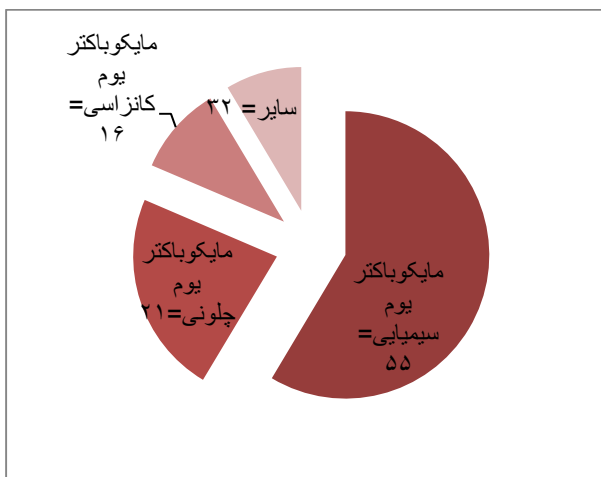
ستون ۱۱ و ۱۰ مایکوباکتریوم کانزاسی و ستون ۱۳ و ۱۲ مایکوباکتریوم اینتراسلولار.

یافته ها

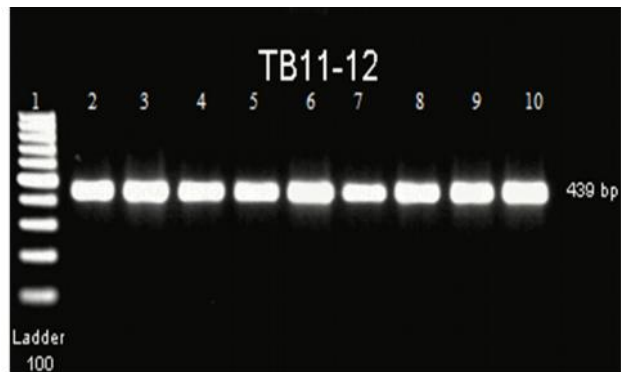
از کل ۸۳۲۲ نمونه، (۱/۵٪) ۱۲۴ سویه NTM مشخص گردید. میانگین سنی بیماران NTM مورد مطالعه $18/9 \pm$ ۵۷ سال (با رنج سنی ۷-۸۸ سال) بود و همین طور غالب این بیماران (۵۵/۶٪) مرد بودند. تنها (۱/۶٪) ۲ بیمار NTM از افاغنه مهاجر ایران بودند.

تمامی سویه های NTM با استفاده از روش های مولکولی مقاوم به ایزونیازید و ریفامپین بودند. رایج ترین گونه های شناسایی شده در این مطالعه، شامل مایکو باکتریوم سیمیایی (۳/۴۴٪)، مایکوباکتریوم چلونی^۸ (۱۶/۹٪) و مایکوباکتریوم کانزاسی^۹ (۱۲/۹٪) بودند (نمودار ۱).

نمودار ۱. فراوانی نمونه های بالینی NTM در میان بیماران

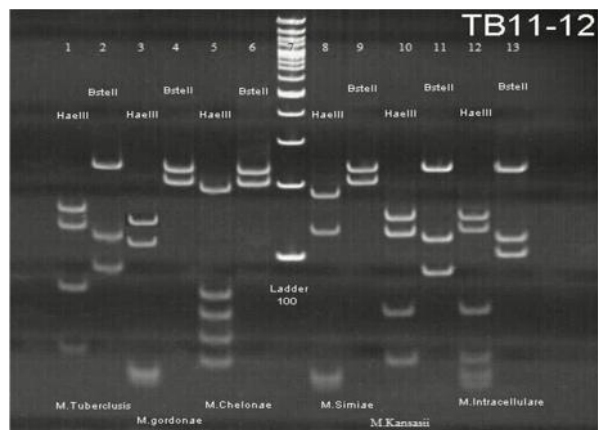


۴۳۹ bp مشاهده گردید (شکل ۲). قطعات تکثیر یافته توسط دو آنزیم اندونوکلاز BstEII و HaeIII مطابق با دستور العمل شرکت سازنده هضم گردید، محصولات هضم شده بر روی ژل آکریل آمید ۸ درصد الکتروفورز و الگوی ژنتیکی حاصل از هضم با مدل ژنتیکی سویه های استاندارد مقایسه گردید (۱۷) (شکل ۳). برای تجزیه و تحلیل داده ها نیز از نرم افزار آماری SPSS استفاده گردید و فراوانی و درصد ها محاسبه شد.



شکل ۲. الگوی حاصل از تکثیر PCR-RFLP

ستون ۱ مارکر ۱۰۰ bp، ستون های ۲ تا ۹ قطعات تکثیر شده ۴۳۹ bp، ستون ۱۰ سوش استاندارد H37RV،



شکل ۳. الگوی حاصل از هضم توسط دو آنزیم محدود الاثر BstEII و HaeIII بر روی ژل آکریل آمید ۸٪ حاوی اتیدیم بروماید ستون ۱ و ۲ مایکوباکتریوم توبرکلوزیس، ستون ۳ و ۴ مایکوباکتریوم گردونه، ستون ۵ و ۶ مایکوباکتریوم چلونه، ستون ۷ مارکر ۱۰۰ bp، ستون ۸ و ۹ مایکوباکتریوم سیمیایی،

^۸ Mycobacterium chelonae

^۹ Mycobacterium kansasii

چلونی شایع ترین مایکوباکتریوم سریع رشد در میان سویه ها بود که در استان گلستان نسبت به سایر استان ها شایع تر (۱۴/۲٪) بوده است.

به طور کلی شیوع مایکوباکتریوم های غیر سلی در استان خوزستان و خراسان و پس از آن در استان گلستان بیش تر از سایر استان های کشورمان بود (جدول ۲).

جدول ۱ نشان دهنده گونه های جدا شده از بیماران مورد مطالعه می باشد.

پراکندگی مایکوباکتریوم سیمیایی به میزان قابل توجهی بالاتر از سایر مایکوباکتریوم های غیر سلی بود که این مایکوباکتریوم در استان خراسان نسبت به سایر استان ها شیوع بیش تری (۱۴/۵٪) داشت، همچنان که مایکوباکتریوم

جدول ۱. پراکندگی مایکوباکتریوم های غیر سلی در ایران، ۹۰-۸۳

تعداد	گونه های NTM
۵۵ (۴۴/۴٪)	مایکوباکتریوم سیمیایی
۲۱ (۱۷٪)	مایکوباکتریوم چلونی
۱۶ (۱۲/۹٪)	مایکوباکتریوم کانزاسی
۹ (۷/۳٪)	مایکوباکتریوم اینتراسلولار
۶ (۴/۸٪)	مایکوباکتریوم آبسس
۴ (۳/۲٪)	مایکوباکتریوم فوریتوم
۴ (۳/۲٪)	مایکوباکتریوم گردونه
۱ (۰/۸٪)	مایکوباکتریوم برندری
۱ (۰/۸٪)	مایکوباکتریوم پاراسکرو
۱ (۰/۸٪)	مایکوباکتریوم شرنیسی
۱ (۰/۸٪)	مایکوباکتریوم اسکرو فالسیوم
۱ (۰/۸٪)	مایکوباکتریوم هنتی
۱ (۰/۸٪)	مایکوباکتریوم آسترا
۱ (۰/۸٪)	مایکوباکتریوم لارینوژ
۱ (۰/۸٪)	مایکوباکتریوم زولگایی
۱ (۰/۸٪)	مایکوباکتریوم مالموننس
۱۲۴	تعداد

جدول ۲. فراوانی مایکوباکتریوم های شایع در استان های کشور

استان	مایکوباکتریوم
خراسان	مایکو باکتریوم سیمیایی
گلستان	مایکوباکتریوم چلونی
تهران	مایکوباکتریوم کانزاسی

بحث

مطالعه انجام شده نشان داد که در ایران شیوع مایکوباکتریوم های غیر سلی نادیده گرفته شده است، بنابراین این احتمال وجود دارد که میزان بیماری های ناشی از این مایکوباکتریوم در ایران رو به افزایش رود.

در ایالات متحده، آسیا و همچنین اکثر قسمت های اروپا کمپلکس مایکوباکتریوم آویوم (MAC^{10}) شایع ترین مایکوباکتریوم غیر سلی بوده است (۱۹۲۰). بر اساس مطالعات انجام گرفته در ترکیه مایکوباکتریوم فورتیتوم^{۱۱} بالاترین میزان شیوع را به خود اختصاص داده است (۲۱).

مطالعات مختلف اخیر گسترش و توزیع مایکوباکتریوم های غیر سلی در ایران را نشان داده است. براساس داده هایی از اصفهان که توسط شجاعی و همکاران در طی سال های ۸۷-۸۵ انجام گرفت، نشان داده شد، مایکوباکتریوم فورتیتوم شایع ترین گونه در ایران است، در مطالعه فوق الذکر روش بررسی همانند روش بررسی مطالعه فعلی بوده یعنی بر اساس تشخیص مایکوباکتریوم با استفاده از پلی مورفیسم ژن hsp65 انجام گردید (۲۲). نتایج به دست آمده از مطالعه ما با نتایج به دست آمده از مطالعه شجاعی و همکاران کاملا متفاوت بوده به طوری که بیش ترین مایکوباکتریوم به دست آمده از این تحقیق مایکوباکتریوم سیمیایی گزارش گردید.

مطالعه دیگری که توسط قائمی و همکاران در سال ۸۵ در استان گلستان بر روی نمونه های خاک انجام شد نشان داد

که مایکوباکتریوم فورتیتوم نیز رایج ترین گونه بوده است، در این بررسی پس از جداسازی نمونه ها از خاک و انتقال به آزمایشگاه جداسازی و کشت بر روی محیط LJ انجام گردید (۲۳). بدیهی است که تفاوت مشاهده شده در تحقیق کنونی و تحقیق ذکر شده به دلیل نوع نمونه مورد بررسی می باشد.

مطالعات بیشتر در آزمایشگاه رفرانس سل کشوری نشان داد که مایکوباکتریوم سیمیایی بیشترین NTM در میان مایکوباکتریوم های غیر سلی بوده است، در این مطالعه که توسط حیدری و همکاران در سال ۸۹ انجام گرفت تمامی نمونه ها از میان بیماران مبتلا به سل ریوی بوده است (۲۴).

بر اساس مطالعه حاضر نتایج با یکدیگر تطبیق داشتند. بر طبق بررسی انجام شده توسط نادری و همکاران در زاهدان که بر اساس روش های معمول بیوشیمیایی انجام گردید شایع ترین مایکوباکتریوم، مایکوباکتریوم کانزاسی گزارش گردید (۲۵). در حالی که در مطالعه حاضر مایکوباکتریوم کانزاسی سومین گونه شایع در میان بیماران بوده است.

مطالعه ما اطلاعات مهمی را در مورد شیوع مایکوباکتریوم های غیر سلی نشان داد. بر خلاف اکثر مطالعات انجام شده در ایران، داده های ما نتایج متفاوتی را در برداشت. در این بررسی ما شیوع بالایی از مایکوباکتریوم سیمیایی را میان بیماران مشاهده کردیم. می توان گفت با توجه به اینکه نمونه های مورد استفاده در این مطالعه از نمونه های ریوی بوده و اگر از قسمت های دیگری به عنوان مثال از بافت و

¹⁰ Mycobacterium avium complex

¹¹ Mycobacterium fortuitum

است تا حدودی آن ها را در برابر کلونیزاسیون ریوی محافظت می کند (۲۹).

با توجه به این که پروتکل درمانی در مورد مایکوباکتریوم های غیر سلی با مایکوباکتریوم توبرکلوزیس کمپلکس متفاوت می باشد بنابراین تشخیص این گونه ها در اسرع وقت اهمیت قابل توجهی برای پزشکان در بر خواهد داشت. درمان NTM بسته به نوع گونه متفاوت بوده با این حال درمان بیماری های ناشی از این مایکوباکتریوم ها هرگز ساده نبوده چرا که نیاز به استفاده از چندین دارو در مدت ۱۸ تا ۲۴ ماه است علاوه بر این، آن ها اغلب عوارض جانبی قابل توجهی دارند و برخی از آن ها اغلب قابل درمان نیستند. آزمایشگاه ها با تشخیص به موقع و دقیق موارد NTM می توانند گام موثری در درمان بیمار برداشته و راهنمای پزشک در انتخاب پروتکل درمانی صحیح باشند (۳۰).

نتیجه گیری

نتایج مایکوباکتریوم های غیر سلی نشان داد که علی رغم تصور نادرست برخی از پزشکان این مایکوباکتریوم ها خطر ساز هستند. همان گونه که در این تحقیق مشخص گردید، گسترش آن ها نیز در ایران شایع بوده و عامل بیماری زایی در بیماران مراجعه کننده به آزمایشگاه رفرانس سل کشوری بودند بنابراین لزوم تشخیص صحیح آن ها حاکی از اهمیت فراوان بوده است چرا که باعث پیشگیری از تجویز دارو های نابجا و تسریع روند درمان خواهد شد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از تمامی همکاران در مرکز تحقیقات مایکوباکتریولوژی، آزمایشگاه رفرانس سل کشوری تشکر و قدردانی می گردد.

یا سایر قسمت ها و یا اینکه از خاک و غیره بود این احتمال بود که نتایج مشابه با سایر مطالعات دریافت شود. یکی دیگر از دلایل احتمالی تفاوت های به دست آمده از مطالعه ما با مطالعات مشابه در ایران این است که بیماران مورد بررسی در این تحقیق، بر خلاف اکثر مطالعات که به صورت استانی انجام گرفته بودند از کل ایران به مرکز رفرانس سل کشوری ارجاع داده شده بودند، لذا مطالعه انجام گرفته در این زمینه عمومیت بیش تری داشته و نشان دهنده شیوع مایکوباکتریوم های غیر سلی در کل ایران است.

مایکوباکتریوم سیمیایی تنها NTM ای است که مانند مایکوباکتریوم توبرکلوزیس نیاسین مثبت بوده (۲۶). گزارشات حاکی از شیوع بیماری های ایجاد شده توسط مایکوباکتریوم سیمیایی در مناطق جنوب غربی امریکا، کوبا و اسرائیل بوده است (۲۷). باید توجه داشت که گونه های مختلف مایکوباکتریوم های غیر سلی که باعث ایجاد بیماری های ریوی می شوند در مناطق جغرافیایی مختلف متفاوت هستند (۲۸). با توجه به شباهت این مایکوباکتریوم به مایکوباکتریوم توبرکلوزیس روش های مولکولی برای تمایز مایکوباکتریوم سیمیایی از مایکوباکتریوم توبرکلوزیس در مقایسه با آزمون های معمول بسیار دقیق تر، سریع تر و حساس تر است (۲۷).

نتایج حاصل نشان داد که مایکوباکتریوم چلونی بیش ترین گونه یافت شده پس از مایکوباکتریوم سیمیایی بوده است، مایکوباکتریوم چلونی و همین طور سایر مایکوباکتریوم های سریع الرشد اغلب در منابع آبی و همین طور در خاک یافت می شوند، مواجهه با مایکوباکتریوم های غیر سلی به علت تغییر در رفتار (قرار گرفتن در معرض آئروسول از طریق حمام گرفتن زیاد) و به دلایل نامشخص با رشد پراکندگی و تعداد مایکوباکتریوم های غیر سلی در محیط افزایش یافته است (۲۸). جوشاندن آب قبل از مصرف یک روش ساده برای افرادی است که در آسیا زندگی می کنند که ممکن

Reference

1. Lim JM, Hwan Kim J, Yang HJ. Management of infections with rapidly growing mycobacteria after unexpected complications of skin and subcutaneous surgical procedures. *Arch Plast Surg* 2012;39(1):18-24.
2. Tortoli E. Impact of genotypic studies on mycobacterial taxonomy: the new mycobacteria of the 1990's. *Clin Microbiol Rev* 2003; 2:313-54.
3. Wallace RJ Jr, O'Brein R, Glassroth J, Raleigh J, Dutta A. Diagnosis and treatment of disease caused by nontuberculous mycobacteria. *Am Rev Respir Dis* 1990;142(4):940-53.
4. Katoch VM, Mohan Kumar T. Atypical mycobacterial infections. In: Sharma SK, editor. *Tuberculosis*, 1st ed. New Delhi: Jaypee Brothers Medical Publishers (P) Ltd. 2001. p. 439-51.
5. Wallace RJ, Glassroth J, Griffith DE, Olover KN, Cook JL, Gordin F. Diagnosis and treatment of disease caused by nontuberculous mycobacteria. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;156(2):S1-25.
6. Hale YM, Pfyffer GE, Salfinger M. Laboratory diagnosis of mycobacterial infections: new tools and lessons learned. *Clin Infect Dis* 2001;33:834-46.
7. Dailloux M, Laurain C, Weber M, Hartemann PH. Water and nontuberculous mycobacteria. *Water Res* 1999; 33(10):2219-28.
8. Muthusami JC, Vyas FL, Mukundan U, Jesudason MR, Govil S, Jesudason SR. *Mycobacterium fortuitum*: an iatrogenic cause of soft tissue infection in surgery. *ANZ J Surg* 2004; 74(8):662-6.
9. Jarzembowski JA, Young MB. Nontuberculous mycobacterial infections. *Arch Pathol Lab Med* 2008; 132(8):1333-41.
10. Hanak V, Kalra S, Aksamit TR, Hartman TE, Tazelaar HD, Ryu JH. Hot tub lung: presenting features and clinical course of 21 patients. *Respir Med* 2006; 100(4):610-5.
11. Cook JL. Nontuberculous mycobacteria: opportunistic environmental pathogens for predisposed hosts. *British Medical Bulletin* 2010;96:45-59.
12. Gopinath K, Singh S. Non-tuberculous mycobacteria in TB-endemic countries: are we neglecting the danger? *Plos Negl Trop Dis* 2010; 4(4):e615.
13. Iseman MD, Marras TK. The importance of nontuberculous mycobacterial lung disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2008;178:999-1000.
14. Holland SM, Prevots DR. Pulmonary nontuberculous mycobacterial infections: antibiotic treatment and associated costs. *Respir Med* 2009;103(10):1448-1455.
15. Baghaei P, Tabarsi P, Farnia P, Marjani M, Sheikholeslami FM, Chitsaz M, et al. Pulmonary disease caused by *Mycobacterium simiae* in Iran's national referral center for tuberculosis. *J Infect Dev Ctries* 2012;6(1):23-28.
16. Costa AR, Lopes ML, Furlaneto IP, Sousa MS, Lima KV. Molecular identification of nontuberculous mycobacteria isolates in a Brazilian mycobacteria reference laboratory. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2010;68(4):390-4.
17. Telenti A, Marchesi F, Balz M, Bally F, Bottger EC, Bodmer T. Rapid identification of mycobacteria to the species level by polymerase chain reaction and restriction enzyme analysis. *J Clin Microbiol* 1993;31(2):175-178.
18. Farnia P, Masjedi MR, Nasiri B, Mirsaedi M, Sorooch S, Kazeampour M, Velayati AA. Instability of IS6110 patterns in multidrug-resistant strains of mycobacterium tuberculosis. *Epidemiol Infect* 2007; 135(2):346-52.

19. Simons S, Ingen JV, Hsueh PR, Hung NV, Dekhuijzen R, Boeree MJ, and et al. Nontuberculousmycobacteria in respiratory tract infections, Eastern Asia. *Emerging Infectious Diseases* 2011;17(3):343-349.
20. Cassidy PM, Hedberg K, Saulson A, McNelly E, Winthrop KL. Nontuberculousmycobacterial disease prevalence and risk factors: A changing epidemiology. *Clinical Infectious Diseases* 2009;49:e124-9.
21. Martín-Casabona N, Bahrmand AR, Bennedsen J, Thomsen VO, Curcio M, Fauville-Dufaux M, and et al. Nontuberculous mycobacteria: patterns of isolation. A multi-country retrospective survey. *Int J Tuberc Lung Dis* 2004; 8:1186-1193.
22. Heidarieh P, Shojaei H, Feizabadi MM, Havaei A, Hashemi A, Ataei B, and et al. Molecular identification and conventional susceptibility testing of Iranian clinical mycobacterium fortuitum isolates. *Iran J Basic Med Sci* 2009;13(1):210-215.
23. Ghaemi E, Ghazisaidi K, Koohsari H, Khodabakhshi B, Mansoorian A. Environmental mycobacteria in areas of high and low tuberculosis prevalence in the Islamic Republic of Iran. *Eastern Mediterranean Health Journal* 2006;12(3-4): 280-285.
24. Heidari F, Farnia P, Nowroozi J, Majd A, Masjedi MR, Velayati AK. Evaluating the sensitivity of three primers using PCR-restriction fragment length polymorphism analysis for rapid identification of mycobacterium simiae isolated from pulmonary tuberculosis patients. *Iranian Journal of Clinical Infectious Diseases* 2010;5(1):30-35.
25. Naderi M, Alavi-Naini R, Sharifi Mood B, Naserfar M. Prevalence of tuberculosis and non tuberculosis mycobacterium in Zahedan, Southeast of Iran. *Research Journal of Microbiology* 2006;1(4):375-377.
26. Cruz AT, Goytia VK, Starke JR. Mycobacterium simiae complex infection in an immunocompetent child. *J Clin Microbiol* 2007;45(8):2745-46.
27. Sampaio JLM, Artiles N, Pereira RMG, Souza JR, Leite JPG. Mycobacterium simiae infection in a patient with acquired immunodeficiency syndrome. *Brazil J Infect Dis* 2001;5(6):352-55.
28. O'Brien DP, Currie BJ, Krause VL. Nontuberculous mycobacterial disease in northern Australia: a case series and review of the literature. *Clin Infect Dis* 2000;31(4):958-67.
29. Eduardo Hernández-Garduño E, Elwood K. Nontuberculousmycobacteria in tap water. *Emerging Infectious Diseases* 2012;18(2):353.
30. Jung Koh W, Jung Kwon O, Soo Lee K. Diagnosis and treatment of nontuberculous mycobacterial pulmonary diseases: A Korean perspective. *J Korean Med Sci* 2005; 20(6): 913-25.