پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره هفدهم شماره ۵۷ فروردین و اردیبهشت سال ۱۳۸۶ (۵۶-۵۰)

شناسایی سویه‌های مقاوم به اتامبوتول مایکوباکتریوم توبرکلوزیس به روش MAS-PCR و مقایسه آن با روش proportion

محمد اصغرزاده(Ph.D.) *+ **علی رضا جهانتابی** (M.Sc.)** **کارن شهبابیان** (M.Sc.)**

محمدرضا نهایی(Ph.D.)*** **عبدالناصر رفیع**(Ph.D.)****

چکیده

سابقه و هدف: اتامبوتول (EMB) از داروهای خط اول در درمان بیماری سل می‌باشد که سویه‌های مقاوم به آن در بسیاری از نقاط جهان رو به افزایش است سویه‌های مقاوم به اتامبوتول معمولاً موتاسیون در ژن embB دارند. هدف از این تحقیق تعیین مقاومت به اتامبوتول در سویه‌های مایکوباکتریوم توبرکلوزیس جدا شده از بیماران به روش MAS-PCR و مقایسه آن با روش proportion است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه ۱۲۰ سویه مایکوباکتریوم توبرکلوزیس جدا شده از بیماران مبتلا به سل در مرکز تحقیقات سل تبریز مورد بررسی قرار گرفتند. تست تعیین حساسیت به داروی اتامبوتول با استفاده از روش proportion انجام گردید و DNA با استفاده از روش تغییر یافته پروتئیناز SDS-K از سلول‌های کشت یافته، جدا شد و به مخلوط PCR اضافه گردید و واکنش طبق برنامه در ترمال سایکلر انجام شد.

یافته‌ها: ۱۱۶ سویه حساس به اتامبوتول و ۴ سویه مقاوم به اتامبوتول (۳/۳۳ درصد) بودند و همه سویه‌های مقاوم به اتامبوتول از نوع مقاوم به چند دارو بودند. روش PCR برای بررسی موتاسیون در کدون embB306 به کار برده شد در هر چهار سویه مقاوم به اتامبوتول موتاسیون در کدون embB306 مشاهده گردید.

استنتاج: نتایج حاصل نشان داد که MAS-PCR می‌تواند به عنوان یک روش ساده و سریع برای تعیین مقاومت به اتامبوتول در سویه‌های مایکوباکتریوم توبرکلوزیس مورد استفاده قرار گیرد.

واژه های کلیدی : مایکوباکتریوم توبرکلوزیس، MAS-PCR ، اتامبوتول

مقدمه

بیماری‌سل یا توبرکلوزیس(TB)یک مشکل جهانی بوده و علیرغم اقدامات وسیع و مبارزه همه جانبه بر علیه آن در چند دهه اخیر، هنوز تعداد مبتلایان به این بیماری فراوان بوده و شیوع آن درکشورهای در حال توسعه و

* متخصص فرآورده های بیولوژیک، عضو هیأت علمی (دانشیار) دانشکده پزشکی و مرکز تحقیقات سل و بیماریهای ریوی دانشگاه علوم پزشکی تبریز

+ ✉ **مولف مسئول :** تبریز- خیابان دانشگاه، دانشکده پزشکی، گروه بیوشیمی و علوم آزمایشگاهی E-mail : asgharzadehmo@yahoo.com

** کارشناسی ارشد میکروب شناسی، مرکز تحقیقات سل و بیماریهای ریوی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

*** متخصص میکروب شناسی، عضو هیأت علمی(استاد) دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز

**** متخصص میکروب شناسی، عضو هیأت علمی(استاد) دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز

تاریخ دریافت : ۸۴/۹/۱۶ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۸۴/۱۱/۱۴ تاریخ تصویب: ۸۵/۷/۲۶

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-05-30]

www.SID.ir

صنعتی افزایش یافته است(۱) و سالانه منجر به مرگ و میر بیش از دو میلیون نفر می‌شود(۲). باسیل اسید فست مایکوباکتریوم توبرکلوزیس عامل ایجادکننده TB می‌باشد(۳) که انواع مقاوم آن به یک یا چند داروی خط اول در درمان بیماری، در بسیاری از کشورهای جهان افزایش یافته است(۴) لذا تشخیص سریع مقاومت داروئی جهت جلوگیری از انتقال باکتری‌های مقاوم به چند دارو (MDR) کمک‌کننده می‌باشد(۵) در مایکوباکتری‌ها، مقاومت به دارو معمولاً ناشی از موتاسیون درمواد ژنتیکی می‌باشد(۶). از داروهای خط اول در درمان بیماری سل اتامبوتول می‌باشد که در ترکیب با دیگر داروها به کار می‌رود(۸،۷) اتامبوتول با آنزیم‌های آرابینوزیل ترانسفرازهای دیواره سلولی مایکوباکتری‌ها واکنش کرده و از سنتز آرابینوگالاکتان که برای ساختن دیواره سلولی لازم است جلوگیری می‌کنند و منجر به تجمع اسید مایکولیک می‌گردد که موجب مرگ سلول می‌شود(۸) اپرون embCAB ، مایکوباکتری‌های آرابینوزیل ترانسفرازها را کد می‌کند(۹) موتاسیون در embB می‌تواند منجر به ایجاد مقاومت به اتامبوتول در مایکوباکتریوم توبرکلوزیس گردد. ۹۰ درصد از موتاسیون‌ها در کدون ATG-Met ۳۰۶ رخ می‌دهد. موتاسیون منجر به جایگزینی اسید آمینه دیگر به جای میتونین می‌شود(۸). اتامبوتول داروی با ارزش در درمان بیماری سل می‌باشد ولی امکان ایجاد مقاومت به اتامبوتول وجود دارد. هدف از این تحقیق، استفاده از روش مولکولی سریع multiplex (allele - specific polymerase chain reaction) MAS-PCR برای تعیین مقاومت به داروی اتامبوتول و مقایسه آن با روش proportion می‌باشدکه موتاسیون در باز اول و سوم embB306 را مورد بررسی قرار دهد تا از این طریق بتوان سریع مایکوباکتریوم توبرکلوزیس مقاوم به اتامبوتول را شناسایی نمود و انتقال سویه‌های مقاوم را به حداقل ممکن رسانید.

مواد و روش ها

محیط لونشتاین جانسون،نیاسین،فوشین،بلودومتیلن، اتامبوتول، ایزونیازید، استرپتومایسین، ریفامپین، تریس، EDTA،SDS،NaCl، اسیدکلریدریک،CTAB،کلرفرم، ایزوآمیل الکل، ایزوپروپانل، اتانول، ایتدیوم بروماید، پارافین و اسید بوریک از شرکت مرک آلمان، پرایمرها از شرکت TIB آلمان، پروتئیناز k و لیزوزیم از شرکت Roche آلمان، dNTP، سایز مارکر و آگاروز از شرکت Fermentas لیتوانی و Taq DNA پلی‌مراز، بافر آن و $MgCl_2$ از شرکت سیناژن ایران تهیه شد.

سویه های باکتریایی و تست حساسیت

صد و بیست سویه جدا شده از بیماران مبتلا به سل (۱۲ تا ۹۰ ساله) در مرکز تحقیقات سل و بیماری‌های ریوی تبریز مورد بررسی قرار گرفت. باکتری‌های جدا شده بر اساس رنگ‌آمیزی اسیدفست، شکل کلنی و تست نیاسین مایکوباکتریوم توبرکلوزیس تعیین هویت شدند و تست تعیین حساسیت به داروی اتامبوتول، ایزونیازید ، ریفامپین و استرپتومایسین با استفاده از روش proportion انجام گردید. بعد از رشد باکتری ها در محیط لونشتاین جانسون، کشت آنها در مقابل ۲ میکروگرم اتامبوتول، ۰/۲ میکروگرم ایزونیازید، ۴۰ میکروگرم ریفامپین و ۴ میکروگرم استرپتومایسین در هر میلی لیتر از محیط لونشتاین جانسون صورت گرفت و جهت کنترل، کشت در محیط فاقد دارو انجام شد. محیط‌های کشت در c° ۳۷ انکوبه شدند و به صورت هفتگی مورد بررسی قرارگرفتند و در۴ هفته (۲۸ روز) و ۶ هفته (۴۲ روز) بعد از کشت، نتیجه بررسی شد. معیار

Archive of SID

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-05-30]

www.SID.ir

مقاومت، رشد ۱ درصد برای هر چهار دارو در مقایسه با کنترل بود(۱۰).

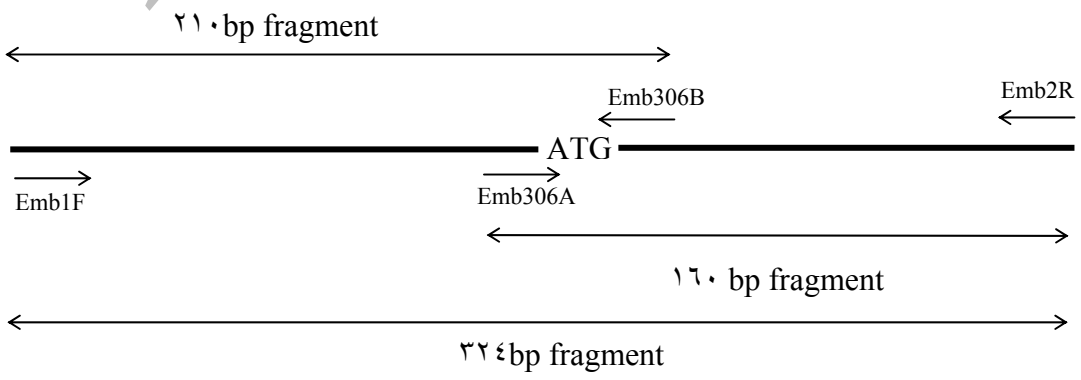
*جداسازی **DNA***

برای استخراج DNA از باکتری‌های کشت یافته استفاده شد و دولوپ از باکتری‌ها به میکروتیوب استریل دارای ۴۰۰ μl بافر TE انتقال داده شد و بمدت ۲۰ دقیقه در حرارت ۸۰ درجه سانتیگراد قرار داده شد و با استفاده از لیزوزیم، SDS ، پروتئیناز K و CTAB ,DNA جدا گردید و بعد از رسوب با ایزوپروپانول و شستشو با اتانول ۷۰ درصد در بافر (,10mM Tris TE pH=8, 1mM EDTA) حل گردید(۱۱).

MAS-PCR

روش MAS-PCR برای شناسایی موتاسیون در باز اول‌وسوم‌embB306 مورداستفاده قرارگرفت پرایمرهای مورد استفاده Emb1F, Emb306B, Emb306A و Emb2R بودند DNA استخراج شده به مقدار ۵ul به مخلوط PCR (حجم نهایی ۵۰ul) اضافه شد که دارای ۵pmol از پرایمرهای Emb2R و Emb306A و pmol ۵۰ از پرایمرهای Emb1Fو Emb306B, $mM\ MgCl_2$ ۱/۵ ، U ۲ Taq DNA پلی مراز نوترکیب (شرکت سیناژن) و μM ۲۰۰ از هرکدام از dCTP, dATP, dCTP, dGTP بود و ۴۰ μl پارافین استریل اضافه شد واکنش درترمال سایکلر به صورت ذیل انجام شد؛ سیکل اول ^{o}C ۹۵ به مدت چهار دقیقه، ۶ سیکل بعدی ۹۴ یک دقیقه، ۷۵ یک دقیقه و ۷۲ چهل ثانیه، ۶ سیکل بعدی ۹۴ یک دقیقه، ۷۴ یک دقیقه و ۷۲ چهل ثانیه و ۲۰ سیکل بعدی ۹۴ یک دقیقه، ۷۳ چهل ثانیه و ^{o}C۷۲ چهل ثانیه انجام شد و سیکل آخر به مدت دو دقیقه در ^{o}C۷۲ قرار داده شدند(۸) در نهایت قطعات تکثیر یافته در ژل آگاروز ۱ درصد الکتروفوزر گردید و پس از رنگ‌آمیزی با ۰/۵ میکروگرم/ میلی‌لیتر اتیدیوم بروماید، درمقابل نورUV حاصل از ترانس‌لومیناتور، مورد بررسی قرار گرفتند و تعداد و اندازه قطعات به دست آمده از مقایسه با ۱۰۰bp DNA Ladder سایز مارکر تعیین گردید.

در این روش سویه‌های حساس، سه باند ۳۲۴، ۱۶۰ و ۲۱۰ bp ایجاد می‌کنند در حالی‌که سویه‌های مقاوم به اتامبوتول دارای موتاسیون در باز اول embB306، دو باند ۳۲۴ و ۲۱۰ bp تولید می‌کنند و سویه‌های مقاوم به اتامبوتول حاوی موتاسیون در باز سوم embB306 دو باند ۳۲۴ و ۱۶۰ bp تولید می‌کنند قطعه ۳۲۴bp توسط پرایمرهای خارجی Emb1F و Emb2R تولید می‌شود و در تمام سویه‌های مقاوم و حساس به اتامبوتول وجود دارد (شکل شماره ۱).



شکل شماره ۱ : منظره شماتیک از قطعه هایی از ژن embB که در روش MAS-PCR تکثیر می یابند.

Archive of SID
[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-05-30]
www.SID.ir

یافته ها

۱۲۰ سویه مایکوباکتریوم توبر کلوزیس مورد بررسی قرار گرفتند. با روش proportion ، ۱۱۶ سویه حساس به داروی اتامبوتول و ۴ سویه (۳/۳۳ درصد) مقاوم با اتامبوتول بودند و هم‌چنین، ۱۲سویه(۱۰ درصد) مقاوم به ریفامپین و ۱۳ سویه (۱۰/۸۳ درصد) مقاوم به ایزونیازیدو ۲۷سویه(۲۲/۵درصد)مقاوم به استرپتومایسین بودند. بر اساس نتایج به دست آمده همه سویه‌های مقاوم به اتامبوتول از نوع مقاوم به چند دارو (MDR) بودند. از سویه‌های مقاوم به اتامبوتول دو سویه، به استرپتومایسین، ریفامپین و ایزونیازید مقاوم بودند و یک سویه مقاوم به ایزونیازید و استرپتومایسین بود. دو سویه حساس به اتامبوتول، به استرپتومایسین، ریفامپین و ایزونیازید مقاوم بودند و یک سویه، به ایزونیازید و ریفامپین مقاوم وبه اتامبوتول و استرپتومایسین حساس بود و هم‌چنین پنج سویه، به استرپتومایسین و ایزونیازید مقاوم به اتامبوتول و ریفامپین حساس بود. از چهار سویه مقاوم به اتامبوتول، سه نمونه از اهالی نخجوان جدا شده بود و فرد چهارم اهل تبریز بود. در کل از ۱۲۰ سویه، ۷ سویه (۵/۸۳ درصد) حداقل به دو دارو از سه داروی ریفامپین، ایزونیازید واتامبوتول مقاوم بودند. روش MAS-PCP برای شناسایی موتاسیون در embB306 مورد استفاده قرار گرفت. همه سویه های مقاوم به اتامبوتول دو باند، نشان دادند که دو سویه دارای دو باند ۳۲۴ و bp ۲۱۰ است و دو سویه دو باند ۳۲۴ و bp ۱۶۰ را داشتند و تمام سویه های حساس به اتامبوتول غیر از شش سویه سه باند ۳۲۴، ۲۱۰ و bp۱۶۰ نشان دادند در آن شش سویه، در چهار سویه، دو باند۳۲۴ و bp ۱۶۰ دیده شد و در دو سویه دو باند ۳۲۴ و bp۲۱۰ وجود داشت، جدول شماره ۱. همه سویه‌های حساس و مقاوم به اتامبوتول باند bp۳۲۴ را نشان دادند که دلالت بر آن داشت که ۱۲۰ سویه جدا شده مایکو باکتریوم توبرکلوزیس بودند.

جدول شماره ۱ : مقایسه روش MAS-AR با proportion جهت شناسایی سویه های مقاوم و حساس به اتامبوتول

روش	سویه های مقاوم به اتامبوتول	سویه‌های حساس به اتامبوتول	کل
porportion	۴(٪۳/۳۳)	۱۱۶ (٪۹۶/۶۷)	۱۲۰
MAS-PCR	۱۰(٪۸/۳۳)	۱۱۰(٪۹۱/۶۷)	۱۲۰

بحث

مایکو باکتری مکانیسم‌های مختلفی را برای فرار از کشته شدن توسط دارو به کار می‌گیرد یکی از این مکانیسم‌ها ایجاد موتاسیون در ژن‌هایی می‌باشد که پروتئین‌های هدف دارو را کد می‌کنند(۳) ژنembB ژنی است که آرابینوزیل ترانسفراز را کد می کند که پروتئین هدف اتامبوتول می باشد ایجاد موتاسیون در embB موجب مقاومت به اتامبوتول می‌گردد(۱۲) و بیشتر موتاسیون‌ها در این ژن در embB306 رخ می‌دهد. تعداد سویه‌های مقاوم مایکو باکتریوم توبرکلوزیس به یک یا چند داروی خط اول در حال افزایش است(۴) و روش استانداردی برای درمان توبرکلوزیس مقاوم به چند دارو (MDR-TB) وجود ندارد و عفونت با این سویه‌ها خصوصا در افرادی که دچار سوء تغذیه و یا آلوده به HIV هستند، منجر به مرگ می‌گردد، لذا شیوع MDR-TB یک خطر جدی برای کنترل سل در سرتاسر جهان می‌باشد(۱۳) و موجب افزایش سل در دنیا می‌گردد(۱۴). در این تحقیق از ۱۲۰ سویه جدا شده، ۷ سویه (۵/۸۳ درصد) حداقل به دو دارو از سه داروی ریفامپین، ایزونیازید و اتامبوتول مقاوم بودند که درصد نسبتا بالایی از مقاومت به چند دارو می‌باشد. درصد MDR در کشورهای مختلف متفاوت می‌باشد، در نپال ۴۸ درصد، در ایالت گجرات هند ۳۳/۸ درصد(۱۵)، بولیوی ۱۵/۳ درصد و پاکستان ۲۸ درصد(۱۶) گزارش شده است. با توجه به این‌که روش proportion مدت

Archive of SID

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-05-30]

www.SID.ir

زیادی طلب می‌کند، استفاده از روش شناسایی سریع برای مایکوباکتریوم‌های مقاوم به داروی اتامبوتول ضروری به نظر می‌رسد. روش MAS-PCR یکی از این روش‌های سریع است که از آن برای بررسی موتاسیون درembB306 استفاده گردید. در روش PCR وجود مهار کننده‌های PCR از نمونه‌های کلینیکی و محتویات غشاء مایکوباکتری‌ها مشکل‌ساز می‌باشند(۱۷) لذا در این تحقیق برای استخراج DNA علاوه از SDS و پروتئیناز K از ماده CTAB استفاده شد. CTAB به عنوان یک دترجنت کاتیونیک، پروتئین‌ها و پلی ساکاریدها را رسوب می‌دهد وموجب جدا شدن مهارکننده‌های PCR می‌گردد.

در این بررسی هر چهار سویه مقاوم به اتامبوتول دارای موتاسیون در embB306 بودند و هم‌چنین شش سویه‌حساس به اتامبوتول دارای موتاسیون درembB306 بودند. در مطالعه Mokrousov نیز، موتاسیون در embB306 در سویه‌های حساس به اتامبوتول دیده شد(۷) نکته جالب این است که تمام سویه‌های حساس به اتامبوتول، دارای موتاسیون درembB306 ، حداقل به یکی از سه آنتی‌بیوتیک ریفامپین، ایزونیازید و استرپتومایسین مقاوم بودند و در سویه‌های حساس به هر چهار آنتی‌بیوتیک ریفامپین، ایزونیازید، استرپتومایسین و اتامبوتول موتاسیون در embB306 دیده نشد. با توجه به این‌که۷۵درصد سویه‌های مقاوم به اتامبوتول و۵۷ درصد سویه‌هایی که حداقل به دو دارو از سه داروی ریفامپین، ایزونیازید و اتامبوتول مقاوم بودند از اهالی نخجوان از کشور آذربایجان جدا شده بودند و مهاجرت به عنوان یکی از عوامل موثر در مقاومت به دارو گزارش شده است(۱۸) لذاکنترل دقیقی برای بیمارانی‌که از نخجوان برای تشخیص بیماری و درمان به تبریز مراجعه می کنند بایدوجود داشته باشد. مزایای روش MAS-PCR برای تشخیص مقاومت به اتامبوتول شامل؛ ۱- آزمایش سریع است و مستقیماً بر روی نمونه‌های کلینکی بدون جداسازی ارگانیسم قابل انجام است ۲- این روش ژنوتیپ سویه‌ها را مورد بررسی قرار می‌دهد در حالی‌که روش proportion فنوتیپ یا بیان ژنوتیپ را مورد ارزیابی قرار می‌دهد که تحت تاثیر شرایط آزمایشگاهی می‌باشد ۳- خطر MAS-PCR در مقایسه با proportion کم‌تر است. ۴- با روش MAS-PCR هم‌چنین شناسایی مایکوباکتریوم توبرکلوزیس صورت می‌گیرد. روش MAS-PCR دارای نقاط ضعف ذیل می‌باشد:

۱- مقاومت مایکوباکتریوم توبرکلوزیس به اتامبوتول ممکن است از طریق مکانیسم‌های دیگر رخ داده باشد.

۲- موتاسیون در embB306 در برخی از سویه‌های حساس به اتامبوتول وجود دارد.

۳- ممکن است موتاسیون در embB306وجود داشته باشد ولی موجب مقاومت به اتامبوتول نشود.

۴- نتایج مثبت کاذب به سبب آلودگی نمونه ها با اسیدنوکلئیک خارجی رخ دهد. بر اساس نتایج این تحقیق پیشنهاد می‌شود در مواردی‌که پزشک معالج حدس می‌زند بیمار آلوده به مایکو باکتریوم توبرکلوزیس مقاوم به چند دارو می‌باشد، بهتر است از روش MAS-PCR برای بررسی مقاومت استفاده گردد.

سپاسگزاری

از همکاری آقای سیروس امینی و کارکنان مرکز تحقیقات سل و بیماری‌های ریوی تبریز در ثبت مشخصات بیماران و اخذ نمونه تقدیر و تشکر می‌گردد.

Archive of SID
[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-05-30]

www.SID.ir

فهرست منابع

1. Cole ST, Brosch R, Parkhill J, Garnier T, Churcher C, Harris D, et al. Deciphering the biology of Mycobacterium tuberculosis from the complete genome sequence. ***Nature.*** 1998; 393(11): 537-44.
2. Soini H, Musser JM. Molecular diagnosis of Mycobacteria. ***Clin. Chem.*** 2001; 47: 809-14.
3. Ramaswamy S, Musser JM. Molecular genetic basis of antimicrobial agent resistsnce in Mycobacterium tuberculosis: ***Tuberc. Lung Dis.*** 1998; 79(1): 3-29.
4. Cohn DJ, Bustreo F, Raviglione MC. Drug-resistant tuberculosis: review of the world wide situation and the WHO/ IUATLD global surveillance project. ***Clin. Infect. Dis.*** 1997; 24: S121-S30.
5. Parsons LM, Salfinger M, Clobridge A, Dormandy J, Mirabello L, Polletta VL, et al. Phenotypic and molecular characterization of Mycobacterium tuberculosis isolated resistant to both Isoniazid and Ethambutol. ***Antimicrob. Agents Chemother.*** 2005; 49(6): 2218-25.
6. Gillespie SH. Evalution of drug resistance in Mycobacterium tuberculosis: Clinical and molecular perspective. ***Antimicrob. Agents Chemother.*** 2002; 46(2): 267-74.
7. Mokrousov I, Otten T, Vyshnevskiy B, Narvakaya O. Detection of embB306 mutations in ethambutol-susceptibile clinical isolates of Mycobacterium tuberculosis from Northwestern Russia: Implications for genotypil resistance testing. ***J. Clin. Microbiol.*** 2002; 40(10): 3810-3.
8. Mokrousov I, Narvskaya 0, Limeschenko E, Otten T, Vyshnerskiy B. Detection of ethambutol-resistant Mycobacterium tuberculosis strains by multiplex allele-specific PCR assay targeting embB306 mutations. ***J. Clin. Microbiol.*** 2002; 40(5): 1617-20.
9. Alcaide F, Pfyffer GE, Telenti A. Role of embB in natural and acquired resistance to ethambutol in Mycobacteria. ***Antimicrb. Agents Chemother.*** 1997; 41(10): 2270-3.
10. Rieder HL, Chonde TM, Myking H, Urbanczik R, Laszlo A, Kim SJ, et al. The public health service national tuberculosis reference laboratory and the national laboratory network. ***IUATLD.*** 1998; 72-76.
11. Von Soolingen D, De Haas PEW, Hermans PWM, Van Embden JDA. DNA fingerprinting of Mycobacterium tuberculosis. ***Methods Enzymol.*** 1994; 235: 196-205.
12. Ramaswamy SV, Amin AG, Goksel S, Stager CE, Dou SJ, Sahli HL, et al. Molecular genetic analysis of nucleotide polymorphisms associated with ethambutol resistance in human isolates of M. tuberculosis. ***Antimicrob. Agents Chemother.*** 2000; 44(2): 326- 36.

Archive of SID

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-05-30]

www.SID.ir

13. Sharma SK, Mohan A. Multidrug-resistant tuberculosis. Indian J. Med. Res. 2004; 120: 354-376.
14. Pereira M, Tripathy S, Inamdar V, Ramesh K,Bhavsar M,Date A,et al. Drug resistance pattern of Mycobacterium tuberculosis in seropositive and seronegative HIV-TB patients in Pune, India. Indian J. Med. Res. 2005; 121: 235-40.
15. Siddiqi N, Shamim M, Hussain S, Choudhary RK, Ahmed N, Prachee, et al. Molecular characterization of Multidrug-resistant isolates of Mycobacterium tuberculosis from patients in north India. Antimicrob. Agents Chemother. 2002; 46(2): 443-50.
16. Butt T, Ahmad RN, Kazmi SY, Rafi N. Multidrug resistant Tuberculosis in Northern Pakistan. J. Pak. Med. Assoc. 2004; 54(9): 469-72.
17. Wilson SM, McNerney R, Nye PM, Godfrey-Faussett PD, Stoker NG, Voller A. Progress toward a simplified polymerase chain reaction and its application to diagnosis of tuberculosis. J. Clin. Microbiol. 1993; 31: 776-82.
18. Brudey k, Gordon M, Mostrom P, Svensson L, Jonsson B, Sola C, et al. Molecular epidemiolgy of Mycobacterium tuberculosis in Western Sweden. J. Clin. Microbiol. 2004; 42(7): 3046-51.

Archive of SID

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-05-30]

www.SID.ir