بررسی میزان وفور ژنوتیپ بیجینگ در سویه‌های مایکوباکتریوم توبرکلوزیس جدا شده از بیماران مسلول

*دکتر نور امیرمظفری I
رشید رمضانزاده II
دکتر پریسا فرنیا III
دکتر فریده قاضی IV

چکیده

زمینه و هدف: اپیدمیولوژی مولکولی به معنی استفاده از تکنیک‌های مولکولی مانند Spoligotyping، RFLP(Restriction Fragment Length Polymorphism) و VNTR(Variable Number Tandem Repeats) برای مطالعه انتشار باکتری‌ها در جامعه می‌باشد. هدف از این مطالعه بررسی فراوانی سویه‌های مختلف مایکوباکتریوم توبرکلوزیس جدا شده از بیماران مسلول با تکنیک اسپولیگوتایپینگ و ارزیابی ریسک فاکتورهای مربوطه می‌باشد.

روش بررسی: در این مطالعه مقطعی ـ تحلیلی، ٤٣٩ بیمار مراجعه کننده به بیمارستان مسیح دانشوری، مرکز آزمایشگاه رفرانس سل کشوری، طی سالهای ٨٤-١٣٨٣ مورد بررسی قرار گرفتند. سویه‌های مایکوباکتریوم توبرکلوزیس بعد از شناسایی و انجام آزمون‌های آنتی‌بیوگرام با روش اسپولیگوتایپینگ، تیپ‌بندی شدند و در نهایت با استفاده از تستهای t و chi-square مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

یافته‌ها: اسپولیگوتایپینگ منتج به ایجاد ١٤٠ طرح گردید که متعلق به سه گروه ژنتیکی اصلی(III، II، I) می‌باشند. اکثریت الگوهای اسپولیگوتایپ بدست آمده (٨٧/١٪) منحصر به فرد بوده و برای اولین بار در ایران گزارش می‌شوند، در حالی که مابقی آنها(١٢/٨٪) مطابق با طرح‌های موجود در بانک جهانی اسپولیگوتایپینگ بودند که از سایر نقاط دنیا نیز گزارش شده‌اند. همچنین غالب‌ترین فامیل در این مطالعه متعلق به فامیل Haarlem می‌باشد. جالب اینکه فقط ٦/٣٪ از سویه‌ها به فامیل بیجینگ تعلق داشتند و اکثریت سویه‌ها مربوط به زیر گروه غیربیجینگ بود. سویه‌های مقاوم به چند دارو، بیش‌تر در گروه تکاملی ١ دیده شدند. در حالت کلی، مقاومت آنتی‌بیوتیکی بالایی در سویه‌های جدا شده از بیماران افغانی دیده شد($P<٠/٠٠١$).

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که سویه‌های مقاوم به چند دارو در باکتری‌های جدا شده از بیماران افغانی ساکن در ایران خیلی بالا بود؛ بعلاوه، وجود فامیل بیجینگ در میان سویه‌های جدا شده از بیماران ایرانی، بایستی جدی در نظر گرفته شود. همچنین مطالعات بیش‌تری برای روشن شدن اهمیت سایر فاکتورهای مهم در کنترل سل نیاز است.

کلیدواژه‌ها: ١ – سل ٢ – مقاومت ٣ – آنتی‌بیوتیک ٤ – اسپولیگوتایپینگ ٥ – بیجینگ

تاریخ دریافت: ٨٤/٩/٥، تاریخ پذیرش: ٨٤/١٢/١٣

I) دانشیار گروه میکروب‌شناسی، دانشکده پزشکی، تقاطع بزرگراه شهید همت و شیخ فضلا... نوری، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی ایران، تهران، ایران (*مؤلف مسؤول).

II) دانشجوی دکترای باکتری‌شناسی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی ایران، تهران، ایران.

III) استادیار گروه میکروب‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی شهید بهشتی، تهران، ایران.

IV) استادیار گروه میکروب‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی ایران، تهران، ایران.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-12]

مقدمه

سل یکی از معضلات اصلی جهان بوده و هر سال ۳ میلیون نفر جان خود را به علت ابتلا به این بیماری از دست می‌دهند. تخمین زده می‌شود که ۱/۳ از جمعیت دنیا به باکتری مایکوباکتریوم توبرکلوزیس آلوده باشند. علی‌رغم اینکه از ۵۰ سال گذشته داروهای ضد سل قابل دسترس می‌باشند، هر سال ۱۰ میلیون مورد جدید به تعداد افراد آلوده اضافه می‌گردد.[۱و ۲]

اولین بار مایکوباکتریوم توبرکلوزیس در سال ۱۸۸۲ توسط کخ به عنوان عامل ایجاد کننده سل معرفی شد.[۳] پس از آن، سایر اعضاء کمپلکس مایکوباکتریوم توبرکلوزیس شناسایی شدند که شامل مایکوباکتریوم افریکانوم، مایکوباکتریوم بوویس و مایکوباکتریوم میکروتی بود که قادر به ایجاد بیماری در انسان و حیوانات هستند.[٤]

به طور طبیعی بیماران مسلول با یک سویه از مایکوباکتریوم توبرکلوزیس آلوده می‌شوند که ایمنی قابل انتقال به سایر سویه‌های مایکوباکتریوم توبرکلوزیس ایجاد می‌کند؛ هر چند که امروزه عفونت‌های ایجاد شده با دو یا چند سویه مایکوباکتریوم نیز در انسان دیده شده است.

عفونت مخلوط(عفونت با بیش از یک سویه مایکوباکتریوم توبرکلوزیس)، عفونت مجدد(عفونت با سویه دیگری از مایکوباکتریوم توبرکلوزیس) و عود عفونت(بازگشت بیماری پس از درمان عفونت اولیه) باعث ایجاد مشکل در تفسیر نتایج تعیین حساسیت دارویی و بررسی اپیدمیولوژیکی سل می‌گردند.[۵] بعلاوه روند توسعه بیماری توسط فاکتورهایی مانند سوء تغذیه، الکلیسم، بی‌خانمانی، بیماری ریوی شغلی، نقص ویتامین د، پلی‌مورفیسم، NRAMP1 (Natural resistance-associated macrophage protein one)، فاکتورهای دموگرافیک، مهاجرت، ایدز و سویه‌های مقاوم به چند دارو تحت تاثیر قرار می‌گیرد.[۳-۱و ٦] همچنین تظاهرات بالینی سل در بین نژادهای مختلف، متفاوت می‌باشد. توسعه نقل و انتقالات و مهاجرت نیز تهدید جهانی می‌باشند.[۲] با در نظر گرفتن این فاکتورها، یک برنامه کنترل کارآمد برای سیستم پایش بین‌المللی نیاز است که قادر به بررسی انتقال سل در جهان باشد.[۷]

برای فهم بهتر فاکتورهایی که انتقال سل را در جامعه تحت تاثیر قرار می‌دهند و همچنین برای ارزیابی برنامه‌های کنترل منطقه‌ایی، شناسایی سویه‌ها می‌توانند به عنوان یک ابزار اساسی و مفید در تحقیقات اپیدمیولوژیکی ـ مولکولی بکار رود. شناسایی سویه‌ها توسط تکنیک‌های استاندارد مولکولی انجام می‌شود که برای مقایسه سویه‌ها بین آزمایشگاه‌ها، مناطق، کشورها و قاره‌ها بکار می‌رود.[٦] بعلاوه شناسایی سویه‌ها می‌توانند برای تعیین سویه‌های شایع و تمایز آنها از سویه‌های نامربوط اپیدمیولوژیکی مفید باشد.

به نظر می‌رسد تمام سویه‌های درگیر در شیوع یک عفونت به صورت کلونال باشند. فامیل‌های کلونال مربوط به هم از M.tuberculosis (Mycobacterium) توسط روشهای تیپ‌بندی مولکولی تعیین می‌گردند که ممکن است به ناحیه خاصی محدود شود یا در کل جهان منتشر شوند.[۷] یکی از این فامیلها، فامیل بیجینگ (Beijing family) می‌باشد که در پکن(چین) در سال ۱۹۹۲ شناسایی شد و سپس از نقاط دیگر دنیا نیز گزارش شد.[۸] مطالعات متعدد نشان داد که این فامیل در ارتباط با مقاومت دارویی و سازگاری شدید به زیست داخل سلولی می‌باشند؛ این فامیل اغلب دارای بیش از ۲۰ کپی از IS6110 در ژنوم خود هستند و طرح باندی(Band pattern) آنها شدیداً به هم شبیه بوده که آنالیز کامپیوتری باندها را مشکل می‌کند.[۹] از نظر ژنتیکی این سویه‌ها شدیداً به هم مربوط بوده که تمایز آنها با تکنیک‌های مورد استفاده مشکل می‌باشد[۸]؛ لذا برای تعیین این سویه‌ها به تکنیک‌های بسیار دقیق نیاز

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-12]

است. با ظهور تکنیک‌های مولکولی، تحقیقات مربوط به سل، ابزارهای جدید و قدرتمندی برای فهم بهتر خصوصیات فیلوژنتیک و انتقال M. tuberculosis پیدا کرد.

اخیراً از روش مولکولی اسپولیگوتایپینگ(Spoligotyping) برای تمایز این فامیل از سایر سویه‌ها استفاده می‌شود. اسپولیگوتایپینگ بر پایه PCR(Polymerase chain reaction)، یک روش سریع و نسبتاً ارزان می‌باشد که به راحتی در آزمایشگاه‌های تشخیص طبی مجهز قابل انجام است. یک ناحیه اختصاصی(Direct repeat=DR) در داخل ژنوم M. tuberculosis مرکب از تعدادی از تکرارهای مستقیم می‌باشد که این لوکوس، محل ترجیحی برای ورود یک کپی از قطعات IS6110 می‌باشد.

منطقه لوکوس DR در ژنوم کمپلکس مایکوباکتریوم توبرکلوزیس شامل چندین ناحیه تکراری ۳۶ جفت بازی حافظت شده می‌باشد. نواحی تکراری فوق(DR) توسط توالی‌های فاصله‌انداز(spacers) ۴۱-۳۵ جفت بازی از همدیگر جدا می‌شوند. تعداد و توالی نوکلوئیدی مناطق فاصله‌انداز در هر گونه، اختصاصی و منحصر به فرد است. بررسی نقاط فاصله‌انداز در تکنیک اسپولیگوتایپینگ به واسطه پرایمرهای اختصاصی متصل به غشاء نیتروسلولوزی صورت می‌گیرد. طرح هیبریداسیون نشان می‌دهد، کدام الگوی نقاط فاصله‌انداز در کدام سویه وجود دارد. این روش را اصطلاحاً اسپولیگوتایپینگ(Spacer oligotypig) یا به عبارتی الگوبرداری نقاط فاصله‌انداز می‌گویند.

ایزوله‌های کلینیکی مایکوباکتریوم توبرکلوزیس و مایکوباکتریوم بوویس در حضور یا عدم وجود یک یا چند فاصله‌انداز و DRهای مجاور آنها اختلاف دارند. از این پلی‌مورفیسم برای تمایز سویه‌های کمپلکس مایکوباکتریوم توبرکلوزیس برای مطالعات اپیدمیولوژیکی و تمایز رده‌ها در بین کمپلکس مایکوباکتریوم توبرکلوزیس (شامل M. tuberculosis، M. bovis، M. microtti و M. canettii) استفاده می‌گردد؛ لذا با این روش، نواحی DR در سویه‌های متفاوت، مورد بررسی قرار گرفته و تشخیص سویه‌ها براساس پلی‌مورفیسم DRها امکانپذیر خواهد بود.

این مطالعه برای شناسایی فامیل‌های مختلف از جمله فامیل بیجینگ در سویه‌های بالینی جدا شده از بیماران مسلول در تهران و بررسی فاکتورهای دخیل در انتقال آنها انجام گرفت.

روش بررسی

جامعه آماری این مطالعه شامل ۳۴۵ بیمار مراجعه کننده به بیمارستان مسیح دانشوری، مرکز آزمایشگاه رفرانس سل کشوری، طی سالهای ۸۴-۱۳۸۳ می‌باشد.

روشهای آزمایشگاهی تشخیص و تعیین حساسیت شامل موارد زیر می‌باشد.

از محیط LJ(Lowenstein Jensen) به عنوان محیط انتخابی برای جداسازی اولیه سویه‌های مایکوباکتریوم استفاده شد و برای شناسایی سویه‌ها از تستهای نیاسین، کاتالاز و احیاء نیترات استفاده گردید. تستهای حساسیت دارویی به وسیله یک روش نسبی غیرمستقیم انجام شد.[۱۰]

برای تعیین حساسیت از داروهای ایزونیازید، ریفامپین، استرپتومایسین و اتامبوتول به ترتیب با غلظت‌های ۰/۲، ۳۰، ۵ و ۱۵ میکروگرم در میلی‌لیتر از محیط LJ استفاده گردید. حساسیت هر سویه با تعیین نسبت رشد باسیل‌های مقاوم به یک دارو در مقایسه با رشد در محیط کنترل بدون آنتی‌بیوتیک، با استفاده از معیارهای بین‌المللی تعیین شد.

مقاومت هر سویه معادل رشد ۱٪ یا بیش‌تر سویه‌ها تعریف شد. در هر آزمایش تعیین حساسیت دارویی با معیارهای کنترل کیفی بین‌المللی، مورد کنترل کیفی قرار گرفت.

این مطالعه از نوع مقطعی ـ تحلیلی بوده و نتایج بدست آمده با استفاده از تستهای t و Chi-square مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

اسپولیگوتایپینگ سویه‌های مایکوباکتریوم توبرکلوزیس با استفاده از روش استاندارد انجام شد.[۱۱] به طور خلاصه، اینکه نواحی فاصله‌انداز با استفاده از

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-12]

پرایمرهای(DRa(CCG AGA GGG GAC GGA AAC و DRb(GGT TTT GGG TCTGAC GAC تکثیر یافتند که DRb در انتهای '۵ با بیوتیـــن نشاندار شده است. DNA تکثیر یافته برای هیبریداسیـــون با ۴۳ ناحیه فاصله‌انداز تست شد. اولیگونوکلئوتیدهـــای سنتتیک نواحی فاصله‌انداز به صورت خطوط موازی با پیونـــد کـــووالان به غشاء نایلونی متصل شده‌اند. قطعات متصل شده بعد از انکوباسیون با استرپتاویدین نشاندار بصورت درخشان (chemiluminescence) آشکار شدند، سپس غشاء نیتروسلولز در مقابل فیلم حساس قرار داده شد. پس از ظهور فیلم، نقاط سیاه نشان دهنده حضور نواحی فاصله‌انداز می‌باشند که می‌توان به صورت عددی نمایش داد. طرح الگوی هر سویه را می‌توان به صورت Octal Code در آورد و با اطلاعات موجود در بانک جهانی اسپولیگوتایپینگ مقایسه کرده و فامیل‌ها و گروه‌های آنها را تعیین کرد.[۱۱]

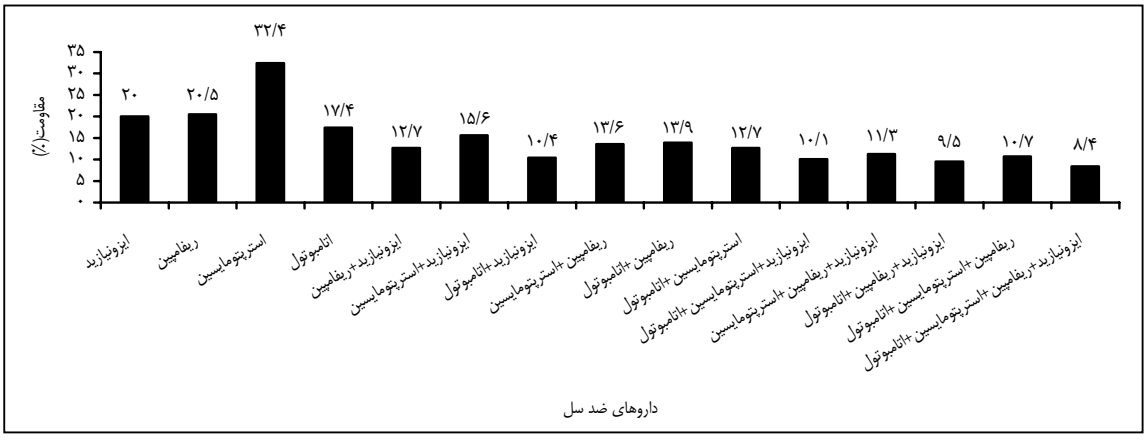
یافته‌ها

از کـــل ۴۳۹ بیمـــار مـــراجعـــه کننـــده بـــه بیمارستـــان مسیح دانشوری، مرکز آزمایشگاه رفرانس سل کشوری، طی سالهای ۸۴-۱۳۸۳، ۳۴۶ نفر(۷۹/۴٪) ملیت ایرانی و ۹۳ نفر (۲۱/۱٪) ملیت افغان داشتند.

میانگین سنی برای کل بیماران، ۴۸/۳۰ سال بود که برای بیماران ایرانی، ۵۲/۰۳ سال و برای بیماران افغان، ۳۵/۰۶ سال بود. مقاومت سویه‌های جدا شده نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده در نمودار شماره ۱ آورده شده است.

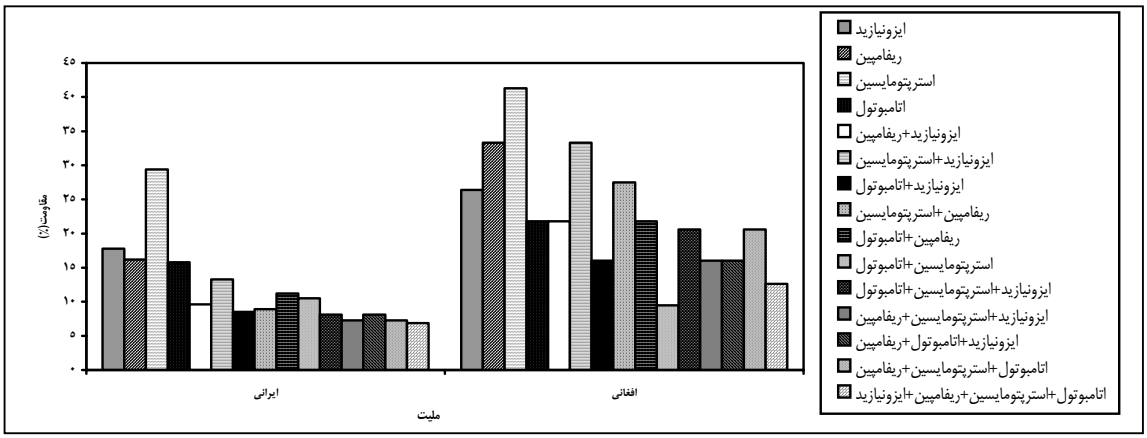
چنانچه در نمودار شماره ۲ دیده می‌شود، مقاومت آنتی‌بیوتیکی در سویه‌های جدا شده از بیماران افغانی بیش‌تر از باکتری‌های جدا شده از بیماران ایرانی است.

اسمیـر مستقیم برای بررسی باسیل‌های اسید فست بر روی نمونه‌ها انجام شد که ۷۸/۵٪ از آنها، مثبت بودند. بیش‌ترین نمونه بالینی، خلط بوده و پس از آن مایع برونش و بیوپسی‌ها در رده دوم و سوم قرار داشتند(جدول شماره ۱). همچنین رابطه بین ملیت و جنسیت بیماران و وجود فامیل بیجینگ و غیربیجینگ در سویه‌های ایزوله شده در جدول شماره ۱ گنجانده شده است.



نمودار شماره ۱- الگوی مقاومت دارویی ۴۳۹ سویه M.tuberculosis جدا شده از بیماران مسلول

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-12]



نمودار شماره ۲- طرح شماتیک مقاومت آنتی‌بیوتیکی در دو گروه مورد مطالعه بر حسب ملیت

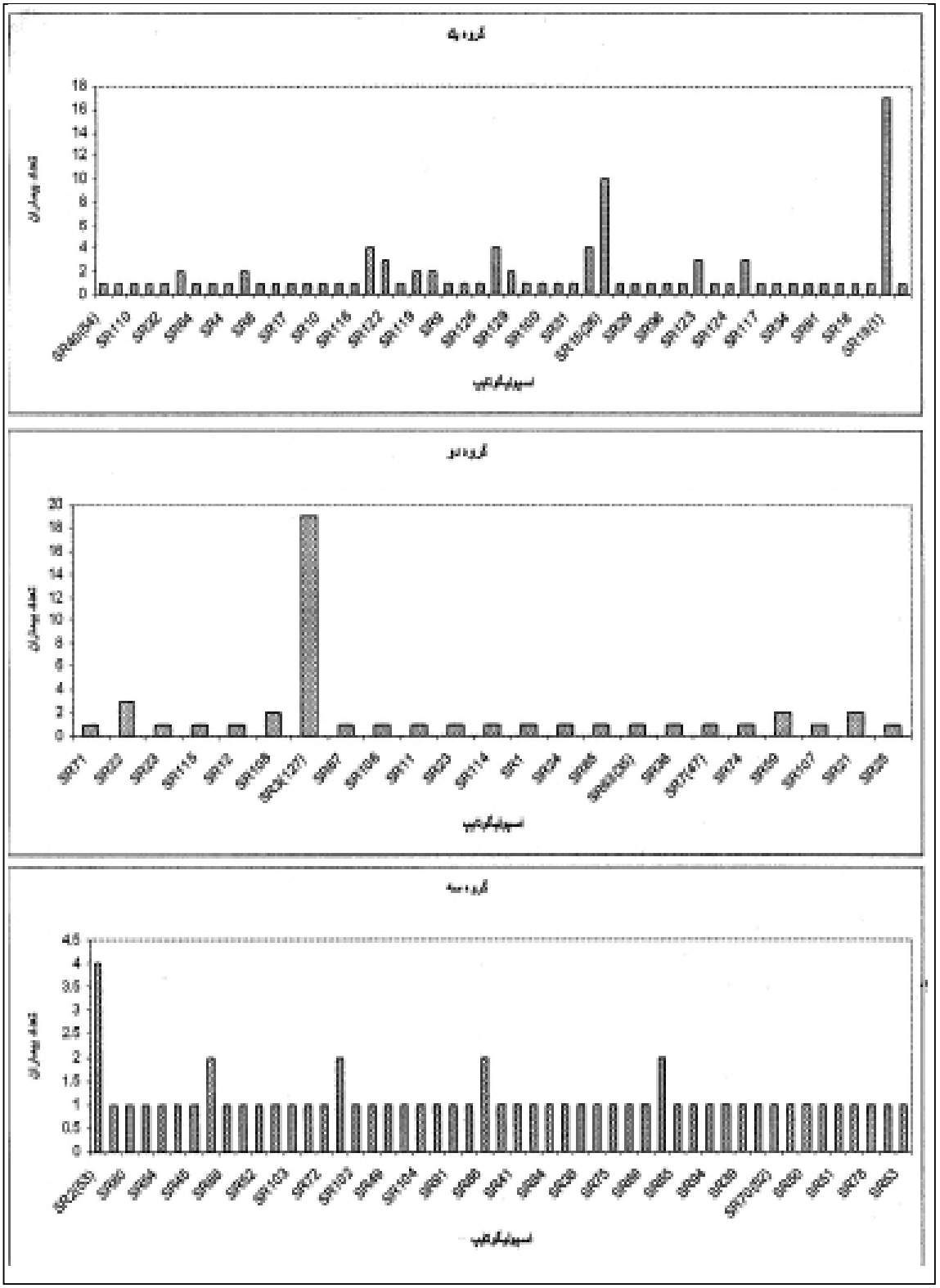
جدول شماره ۱- رابطه بین ملیت و بررسی اسمیر مستقیم، جنس، منبع نمونه بالینی و فامیل بیجینگ

		ملیت			
		ایرانی		افغانی	
		تعداد	درصد	تعداد	درصد
اسمیر مستقیم	مثبت	۲۷۰	٦۱/٥	۷٥	۱۷
	منفی	۷٦	۱۷/۳	۲۲	٥
منبع نمونه‌های بالینی	خلط	۲۹۱	٦٦/۲	۷۷	۱۷/٥
	برونش	۲۳	٥/۲	۲	۱/٦
	مایع جنب	۳	۱/۹	۱۰	۲/۲
	ادرار	۲	۰/٦	۲	۰/٦
	گره‌های لنفاوی	۱	۰/۲	۰	۰
	بیوپسی	۱۰	۲/۲	۲	۰/٦
	آبسه	۱	۰/۲	۰	۰
	شیره معده	۸	۱/۸	۰	۰
	لاواژ برونشی	۷	۱/۹	۰	۰
جنس	مذکر	۲۲٤	٥۱	٦۹	۱٥/۷
	مونث	۱۲۲	۲۷/۷	۲٤	٥/٤
فامیل	غیربیجینگ	۱٥۱	٦۸/٦	٥٥	۲٥
	بیجینگ	۹	٤	٥	۲/۳

از کل سویه‌های مورد بررسی، DNA مناسب برای اسپولیگوتایپینـــگ از ۲۲۰ سویه بدست آمد که پس از آنالیز، ۱٤۰ نوع طرح اسپولیگوتایپ شناسایی شدند که به سـه گروه ژنتیکی تکاملی اصلی(I، II و III) تعلق داشتند. ۹۱٪ طرحهای اسپولیگوتایپی گزارش شده در این مطالعه منحصر به فرد بوده و برای اولین بار گزارش می‌شوند. در حالیکه فقط ۹٪ آنها مطابق با طرحهای موجود در بانک جهانی اسپولیگوتایپینگ بوده که از سایر نقاط دنیا نیز گزارش گردیده بودند. غالب‌ترین فامیل در این مطالعه، متعلق به فامیل Haarlem می‌باشد که به همراه سایر فامیل‌های موجود، در نمودار شماره ٤ نمایش داده شده است. زیرگروه‌های T و EAI با ۳۹ و ۳۱ عضو در رده دوم و سوم قرار دارند(نمودار شماره ٤)، همچنین ٦/۳٪ از سویه‌ها به فامیل بیجینگ تعلق داشتند(جدول شماره ۱).

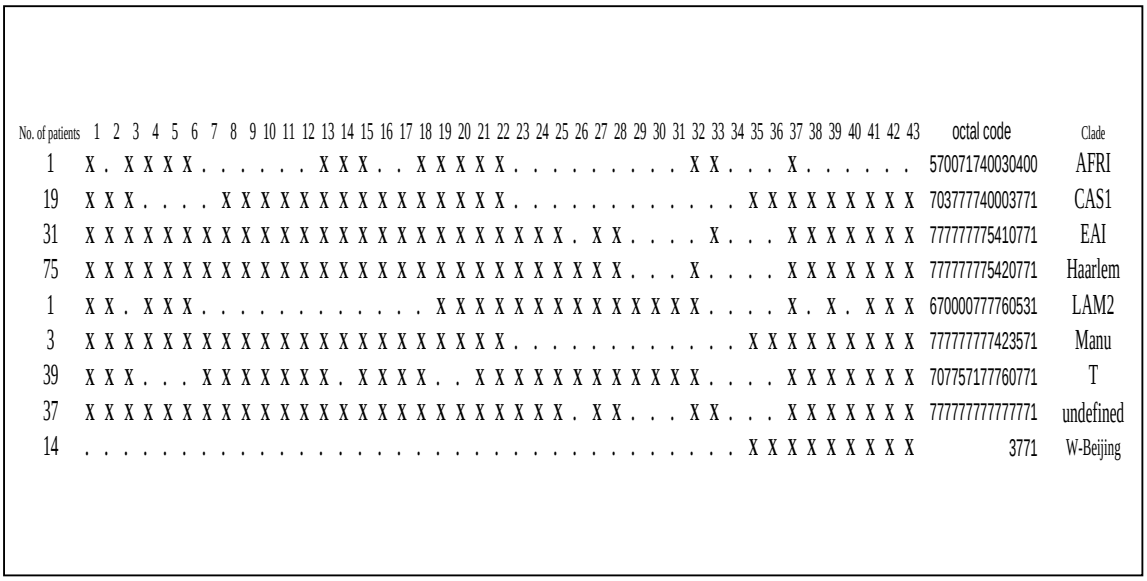
تعداد بیماران مربوط به هر طرح در نمودار شماره ۳ نشان داده شده است. با در نظر گرفتن مقاومت نسبت به یک دارو، بالاترین میزان مقاومت نسبت به استرپتومایسین مشاهده گردید. در مورد مقاومت‌های چند دارویی نیز، بیش‌ترین درصد مقاومت‌های دو آنتی‌بیوتیکی مشاهده شده نسبت به ترکیب استرپتومایسین با ایزونیازید، یا اتامبوتول و یا ریفامپین بوده است(نمودار شماره ۱). کل نتایج آزمون‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی با در نظر گرفتن اعضای فامیل بیجینگ و غیربیجینگ به صورت تفکیکی در جدول شماره ۲ گنجانیده شده است.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-12]



نمودار شماره ۳- توزیع فراوانی طرح‌های اسپولیگوتایپینگ جدا شده از بیماران مسلول

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-12]



نمودار شماره ۴– طرح شماتیک فامیل‌های حاصل از بررسی ۲۲۰ طرح اسپولیگوتایپ جدا شده از سویه‌های مایکوباکتریوم توبرکلوزیس

جدول شماره ۲– مقایسه مقاومت آنتی‌بیوتیکی در فامیل بیجینگ و غیربیجینگ سویه‌های جدا شده از بیماران مسلول(P<۰/۰۰۱)

داروهای ضد سلی		فامیل			
		غیربیجینگ		بیجینگ	
		تعداد	درصد	تعداد	درصد
ایزونیازید	حساس	۱۳۷	۷۲/۱	۱۱	۵/۸
	مقاوم	۳۶	۱۸/۹	۶	۳/۲
استرپتومایسین	حساس	۱۰۸	۵۶/۸	۵	۲/۶
	مقاوم	۶۵	۳۷/۶	۱۲	۶/۳
ریفامپین	حساس	۱۳۳	۷۰	۱۲	۶/۳
	مقاوم	۴۰	۲۱/۱	۵	۲/۶
اتامبوتول	حساس	۱۴۵	۷۶/۳	۱۳	۶/۸
	مقاوم	۲۸	۱۴/۷	۴	۲/۱
ایزونیازید + ریفامپین	حساس	۲۱	۴۳/۸	۳	۶/۳
	مقاوم	۲۰	۴۱/۷	۴	۸/۳
ایزونیازید + استرپتومایسین	حساس	۱۹	۳۹/۶	۲	۴/۲
	مقاوم	۲۲	۴۵/۸	۵	۱۰/۴
ایزونیازید + اتامبوتول	حساس	۲۷	۵۶/۳	۴	۸/۳
	مقاوم	۱۴	۲۹/۲	۳	۶/۳
ریفامپین + استرپتومایسین	حساس	۱۷	۳۵/۴	۲	۴/۲
	مقاوم	۲۴	۵۰	۲	۴/۲
ریفامپین + اتامبوتول	حساس	۱۸	۳۷/۵	۴	۸/۳
	مقاوم	۲۳	۴۷/۹	۳	۶/۳
استرپتومایسین + اتامبوتول	حساس	۲۱	۴۳/۸	۳	۶/۳
	مقاوم	۲۰	۴۱/۷	۴	۸/۳
ایزونیازید + استرپتومایسین + اتامبوتول	حساس	۲۸	۵۸/۳	۴	۸/۳
	مقاوم	۱۳	۲۷/۱	۳	۶/۳
ایزونیازید + ریفامپین + استرپتومایسین	حساس	۲۶	۵۴/۲	۳	۶/۳
	مقاوم	۱۵	۳۱/۳	۴	۸/۳
ایزونیازید + ریفامپین + اتامبوتول	حساس	۲۷	۵۶/۳	۴	۸/۳
	مقاوم	۱۴	۲۹/۲	۳	۶/۳
ریفامپین + استرپتومایسین + اتامبوتول	حساس	۲۲	۴۵/۸	۴	۸/۳
	مقاوم	۱۹	۳۹/۶	۳	۶/۳
ایزونیازید + ریفامپین + استرپتومایسین + اتامبوتول	حساس	۲۸	۵۸/۳	۴	۸/۳
	مقاوم	۱۳	۲۷/۱	۳	۶/۳

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-12]

بحث

این مطالعه برای بررسی الگوی مولکولی مقاومت سویه‌ها و همچنین فاکتورهای دخیل در انتقال صورت گرفته است. در این مطالعه میزان مقاومت مشاهده شده به یک آنتی‌بیوتیک یا ترکیبی از دو یا سه آنتی‌بیوتیک(جدول شماره ۲) بالاتر از گزارش قبلی از ایران می‌باشد.[۱۲] مقاومت دارویی، یک مشکل اساسی در درمان و کنترل سل می‌باشد و اضافه شدن سویه‌های مقاوم به چند دارو باعث تشدید این معظل بهداشتی دنیا شده است. میانگین فرکانس کسب مقاومت چند دارویی(Multi drug resistance-Tuberculosis=MDR-TB)، ۱۳٪ گزارش شده است.[۱۳] این سویه‌ها قادر به انتقال به افراد آلوده به ویروس ایدز در بیمارستان‌ها و زندان‌ها می‌باشند.[۱۴]

سویه‌های مایکوباکتریوم توبرکلوزیس جدا شده از بیماران افغانی، سطح مقاومت دارویی بالاتری نسبت به سویه‌های جدا شده از بیماران ایرانی نشان دادند(نمودار شماره ۲). اکثر باکتری‌های جدا شده از بیماران ایرانی متعلق به گروه تکاملی ۲ بودند؛ در حالی که اکثریت سویه‌های جدا شده از بیماران افغانی به گروه ۱ تعلق داشتند(نمودار شماره ۳). با در نظر گرفتن همراهی سویه‌ها مقاوم به چند دارو با گروه ژنتیکی ۱[۱۵]، می‌توان استنباط کرد که غالب بودن گروه ۱ در ایزوله‌های افغانی مطابق با مقاومت بالای مشاهده شده می‌باشد.

براساس پلی‌مورفیسم مشاهده شده در نوکلئوتیدهای katG codon 465 و gyrA codon 95، سه گروه ژنتیکی تکاملی از سویه‌های M. tuberculosis شناسایی گردیدند. باکتری‌های متعلق به گروه‌های ۲ و ۳، قادر به هیبریداسیون با فاصله اندازه‌های ۳۳ تا ۳۶ نیستند.[۱۶] همچنین اخیراً این گروه‌ها به چندین زیر گروه (فامیل) تقسیم شده‌اند[۱۷]؛ لذا فامیل‌های W-Beijing، CAS(Central Asian) و EAI(East-African-Indian) به گروه اصلی ژنتیکی ۱ تعلق دارند؛ در حالی که فامیل‌های X(European-low banders)، H(Haarlem)، LAM(Latino-American and Mediterranean) و فامیل T متعلق به گروه اصلی ژنتیکی ۲ و ۳ می‌باشند. با اقتباس از بانک جهانی اطلاعات اسپولیگوتایپینگ و آنالیز طرح‌های این مطالعه، ۱۴۰ طرح اسپولیگوتایپ متعلق به این سه گروه ژنتیکی مشاهده شد(نمودار شماره ۳).

شایع‌ترین اسپولیگوتایپ‌های بررسی شده در این مطالعه [SR3(127)] متعلق به گروه اصلی ۲ بود و SR19(1) و SR15(26) متعلق به گروه اصلی ۱ بودند(نمودار شماره ۳). همچنین ۲۲۰ طرح حاصله به زیرگروه‌های شرح داده شده تقسیم شده‌اند که ۳۴٪ متعلق به فامیل Haarlem، ۱۷/۱٪ متعلق به فامیل T، ۱۴٪ متعلق به فامیل EAI، ۸/۶٪ متعلق به فامیل CASI، ۶/۳٪ متعلق به فامیل W-Beijing و ۱/۳٪ متعلق به فامیل Manu بودند.

فردیناند و همکارانش[۱۸] گزارش کردند که ۲۳/۵٪ از ایزوله‌ها به فامیل EAI، ۹/۱٪ به فامیل CAS، ٤٪ به فامیل Beijing و ۲/۷٪ به فامیل Manu متعلق بودند. در یک مطالعه دیگر، ۱۱/۷٪ به فامیل T، ۷/۳٪ به فامیل Haarlem و ۳/۲٪ به فامیل Beijing تعلق داشتند.[۱۹]

در مقایسه با دو مطالعه مذکور که اکثریت سویه‌ها به فامیل‌های EAI و T تعلق داشتند، در این مطالعه اکثریت سویه‌ها مشاهده شده متعلق به فامیل Haaarlem بود که در گروه اصلی ۲و ۳ قرار دارند؛ لذا چنین استنباط می‌شود که انتشار سویه‌های مختلف مایکوباکتریوم توبرکلوزیس به صورت کلونال می‌باشد و برای هر منطقه، اختصاصی بوده و احتمالاً انتشار آنها تحت تاثیر شرایط دیگر مانند شرایط جغرافیایی و سایر فاکتورها تغییر می‌یابد. چنانچه ذکر شد فامیل بیجینگ در گروه ژنتیکی اصلی ۱ قرار دارد و همراهی این سویه‌ها با مقاومت دارویی از بسیاری از کشورهای دنیا گزارش شده است.[۲۰]

برای اولین بار سویه‌های مربوط به فامیل بیجینگ از چین گزارش گردیدند و هم اکنون در ۱۷ ناحیه اطراف پکن شایع می‌باشند. این سویه‌ها همچنین به کشورهای مجاور مانند مغولستان، تایلند، کره جنوبی و ویتنام منتشر شده‌اند [۲۱]، حتی مکان‌های خیلی دور با این سویه‌ها آلوده شده‌اند. از مکان‌های آلوده به فامیل بیجینگ می‌توان

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-12]

از آفریقای جنوبی، کلمبیا و جزایر قناری نیز یاد برد.[۱۰، ۲۲و ۲۳]

به نظر می‌رسد تکنیک اسپولیگوتایپینگ، یک روش حساس و اختصاصی برای تعیین فامیل بیجینگ است که نتایج حاصله به راحتی قابل مقایسه با نتایج مطالعات مختلف می‌باشد. همچنین از روش انگشت‌نگاری IS6110 برای بررسی این فامیل استفاده می‌شود که نتایج آن همخوانی نزدیکی با تکنیک اسپولیگوتایپینگ دارد.[۲۴] چنانچه قبلاً ذکر شد در این مطالعه، ٦/٣٪ از سویه‌ها در زیر گروه بیجینگ قرار داشتند(نمودار شماره ۳).

میزان جداسازی این فامیل در بسیاری از کشورهای آسیایی بیش از ۵۰٪ گزارش شده است.[۲۱] این نتایج نشان می‌دهند که فامیل بیجینگ، بومی ایران نبوده و از مرزهای شرقی بخصوص از طریق مهاجران افغانی وارد کشور ایران شده است.

نتیجه‌گیری

اسپولیگوتایپینگ، یک روش آسان و سریع برای بررسی ژنوتیپ M.tuberculosis بویژه فامیل بیجینگ می‌باشد. فامیل بیجینگ، تنها ٦/٣٪ از کل سویه‌های M.tuberculosis جدا شده از افراد مسلول در این مطالعه را به خود اختصاص می‌داد. فاکتورهای مختلفی در انتشار فامیل بیجینگ دخالت دارند و بسیاری از این فاکتورها از ناحیه‌ای به ناحیه دیگری متفاوت می‌باشند؛ لذا مطالعات بیش‌تری نیاز است که نقش تک تک این فاکتورها را بررسی نماید تا بتوان برنامه کنترل و درمان دقیقی برای ریشه‌کن کردن این بیماری ارایه داد.

تقدیر و تشکر

این تحقیق با استفاده از حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی ایران در قالب طرح تحقیقاتی(شماره ثبت: ۱٤۷/پ) انجام گردیده است که بدین وسیله نویسندگان مقاله مراتب تقدیر و تشکر خود را از مسؤولین آن مرکز و دکتر .J kemerbeek به علت فرستادن پروتکل استاندارد اسپولیگوتایپینگ و کارکنان آزمایشگاه رفرانس سل کشوری به علت کمکهای آزمایشگاهی روتین در تشخیص این سویه‌ها، ابراز می‌دارند.

فهرست منابع

1- Burgos MV. Molecular epidemiology of tuberculosis. Eur Respir J 2002; 20: 54-65.

2- Mazars ESL, Banuls AL, Gilbert ML, Vincent V, Gicquel B, Tibayrenc M, et al. High-resolution minisatellite-based typing aas a portable approach to global analysis of Mycobacterium tuberculosis molecular epidemiology. PNAS 2001; 98: 1901-6.

3- Angmap GF. Effects of genetic variability of mycobacterium tuberculosis strains on the presentation of disease. Lancet Infect Dis 2005; 5: 174-83.

4- Rfawa MOL. Genetic diversity in the Mycobacterium tuberculosis complex based on variable numbers of tandem DNA repeats. Microbiology 1998; 144: 1189-96.

5- Shamputa IC, Eyongeta LA, El Aila NA, Van Deun A, Salim AH, Willery E, et al. Genotypic and Phenotypic hetergeneity among mycobacterium tuberculosis Isolates from Pulmonary Tuberculosis Patients. Journal of Clinical Microbiology 2004; 42: 5528-36.

6- Tdmashg EK. Molecular methods for Mycobacterium tuberculosis strain typing: a user's guide. Journal of Applied Microbiology 2003; 94: 781-91.

7- Supply P, Lesjean S, Savine E, Kremer K, Van Soolingen, Locht C. Automated high-throughput genotyping for study of global epidemiology of mycobacterium tuberculosis based on mycobacterial interspersed repetitive units. Journal of Clincial Microbiology 2001; 39(10): 3563-71.

8- Mokrousov I, Limeschenko E, Vyazovaya A, Otten T, Vyshnevskiy B. Analysis of the allelic diversity of the mycobacterial interspersed repetitive units in mycobacterium tuberculosis strains of the Beijing family: Practical Implications and evolutionary considerations. Journal of Clinical Microbiology 2004; 42: 2438-44.

9- Kam KM, Tse LW, Wong KL, Lam TK, Kremer K, Yan Au BK, et al. Utility of mycobacterial interspersed repetitive unit typing for differentiating multidrug-resistant mycobacterium tuberculosis Isolates of the Beijing Family. Journal of Clinical Microbiology 2005; 43: 306-13.

10- Schaaf HS, Shean K, Donald PR. Culture confimed multidrug resistant tuberculosis: diagnostic delay, clinical features, and outcome. Arch Dis Child 2003; 88: 1106-11.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-12]

11- Kremer K, Van Soolingen D, Frothingham R, Haas WH, Hermans PWM, Martin C, et al. Comparison of methods based on different molecular epidemiological markers for typing of mycobacterium tuberculosis complex strains. Interlaboratory study of discriminatory power and reproducibility 1999; 37(8): 2607-18.

12- Mansoori SD, Arami S, Mirabolhasani Z, Farnia P, Velayati A. The pattern of drug resistance among newly diagnosed and old cases of pulmonary tuberculosis in NRITLD. Arch Iranian Med 2003; 6(4): 255-60.

13- Youngchaiyud P. Introduction. Chemotherapy 1999; 45(Suppl 2): 1-2.

14- Iseman MD. Management of multidrug-resistant tuberculosis. Chemotherapy 1999; 45(Suppl 2): 3-11.

15- Toungoussova OS, Per Sandven P, Mariandyshev AO, Nizovtseva NI, Bjune GA, Caugant DA. Spread of drug-resistant mycobacterium tuberculosis strains of the Beijing genotype in the Archangel Oblast, Russia. Journal of Clinical Microbiology 2002; 40(6): 1930-7.

16- Soini H, Pan X, Amin A, Graviss EA, Siddiqui A, Musser JM. Characterization of Mycobacterium tuberculosis isolates from patients in Houston, Texas, by Spoligotyping. J Clin Microbiol 2000; 38(2): 669-76.

17- Sebban M, Mokrousov I, Rastogi N, Sola C. A data mining approach to spacer oligonucleotide typing of Mycobacterium tuberculosis. Bioinformatics 2002; 15(2): 235-43.

18- Ferdinand S, Sola C, Chanteau S, Ramarokoto H, Rasolonavalon T, Rasolofo-Razanamparany V, et al. A study of spoligotyping-defined mycobacterium tuberculosis clades in relation to the origin of peopling and the demographic history in Madagascar Infection. Genetics and Evolution 2005; 5: 340-8.

19- 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. J Clin Microbiol 2005; 43(4): 1617-24.

20- Glynn JR, Whiteley J, Bifani PJ, Kremer K, Van Soolingen D. Worldwide occurrence of Beijing/W strains of mycobacterium tuberculosis: A systemic Review. Emerging Infectious Diseases 2002; 8(8): 843-9.

21- Van Soolingen D, Qian L, de Haas PEW, Douglas JT, Traore H, Portaels F, et al. Predominance of a single genotype of Mycobacterium tuberculosis in countries of East Asia. J Clin Microbiol 1995; 33: 3234-8.

22- Palittapongarnpim P, Luangsook P, Tansuphaswadikul S, Chuchottaworn C, Prachaktam R, Sathapatayavongs B. Restriction fragment length polymorphism study of Mycobacterium tuberculosis in Thailand using IS6110 as probe. Int J Tuberc Lung Dis 1997; 1: 370-6.

23- Toungoussova OS, Per Sandven P, Mariandyshev AO, Nizovtseva NI, Bjune GA, Caugant DA. Spread of drug-resistant mycobacterium tuberculosis strains of the Beijing Genotype in the Archangel Oblast, Russia. Journal of Clinical Microbiology 2002; 40(6): 1930-7.

24- Dale JW, Al-Ghusein H, Al-Hashmi S, Butcher P, Dickens AL, Drobniewski F, et al. Evolutionary relationships among strains of Mycobacterium tuberculosis with few copies of IS6110. Journal of Bacteriology 2003; 185(8): 82555-62.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-12]

The Frequency of Beijing Genotype of Mycobacterium Tuberculosis Isolated from Tuberculosis Patients

***N. Amirmozafari, Ph.D.**[I] ***R. Ramezanzadeh, MSc**[II] ***P. Farnia, Ph.D.**[III]
***F. Ghazi, Ph.D.**[IV]

Abstract

Background & Aim: Molecular epidemiology is the using of molecular techniques (e.g. Spoligotyping, RFLP VNTR) in order to study bacterial distribution in human populations. The aim of this study was to investigate the prevalence of all genotypes in M. tuberculosis strains typed by spoligotyping and to determine the associated risk factors in patients with different nationalities residing in Iran.

Patients & Methods: In this analytic cross-sectional study a total number of 439 patients who referred to NRITLD (a referral tuberculosis center in Iran) were registered during March 21st 2003 to March 21st 2004. The isolated Mycobacterium tuberculosis strains were characterized by performing susceptibility tests against four first-line antituberculosis drugs and were then subjected to spoligotyping characterization. T-test and ch-square test were used for analysis of the data.

Results: Spoligotyping of M. tuberculosis strains resulted in 140 different patterns divided into three evolutionary groups(I, II, III). 122(87.1%) of these spoligotype isolates were unique and reported for the first time. The remaining 18(12.8%) spoligotype patterns were previously reported from other geographical regions of the world. Haarlem family was more prevalent than other genotypes. Interestingly, 6.3% of the strains belonged to the Beijing family. MDR(multi drug resistance), double and triple resistance were seen in group I of evolutionary scenario. Antibiotic resistance was higher in those isolated from Afghan patients($P<0.001$). Other risk factors such as sex and age were also contributing factors to the disease state.

Conclusion: Results showed that multi-drug-resistance was more prevalent in bacteria isolated from Afghan TB patients residing in Iran. In addition, the spread of M. tuberculosis strains belonging to Beijing family among Iranian patients has to be considered seriously. It is also important to undertake studies to identify which factors are the most significant to consider in tuberculosis control program.

Key Words: 1) Tuberculosis 2) Resistance 3)Antibiotic 4) Spoligotyping 5) Beijing

***I*)** *Associate Professor of Microbiology Department. School of Medicine. Iran University of Medical Sciences and Health Services. Tehran, Iran.(*Corresponding Author)*
***II*)** *Ph.D. Student of Medical Bacteriology. Instructor. Microbiology Department, Kordestan University of Medical Sciences and Health Services, Kordestan, Iran.*
***III*)** *Assistant Professor of Microbiology. Shahid Beheshti University of Medical Sciences and Health Services. Tehran, Iran.*
***IV*)** *Assistant Professor of Microbiology. Iran University of Medical Sciences and Health Services. Tehran, Iran.*

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-12]