مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی- مولکولی
دوره چهارم، شماره پانزدهم، تابستان ۱۳۹۳

NCMBJ
Research Article
مقاله تحقیقی

مقایسه و بهینه سازی روش های جداسازی مایکوباکتریوم های غیر سلی از آب های سطحی

سروناز فلسفی[۱]، سعید ذاکر بستان آباد*[۲]، محمد مهدی فیض آبادی[۳]، رمضانعلی خاوری نژاد[۴]، عبدالرزاق هاشمی شهرکی[۵]، مصطفی قلمی[۶]

نسرین شیخی[۶]

[۱]دانشجوی دکتری میکروبیولوژی، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران ، ایران
[۲*]استادیار،گروه زیست شناسی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد پرند، تهران ، ایران
[۳]استاد،گروه میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران ، ایران
[۴]استاد،گروه زیست شناسی ، دانشکده علوم پایه ، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران ، ایران
[۵]استادیار، انستیتو پاستور ایران، گروه اپیدمیولوژی، تهران، ایران

چکیده

سابقه و هدف: محیط زیست منبع احتمالی مایکوباکتریوم های غیر سلی(NTM) است که در عفونت های انسانی به ویژه ریه، پوست و عفونت بافت نرم دخالت دارند. کشت مایکوباکتریوم ها در محیط های کشت غنی نیاز به انکوباسیون طولانی مدت دارد که رشد میکروارگانیسم های تند رشد و آلوده کننده در این محیط ها مانع از مشاهده کلنی های مایکوباکتریومی روی محیط کشت می شود. به منظور اندازه گیری میزان شیوع NTM در اکوسیستم های مختلف آبزی ما سعی به استانداردسازی و مقایسه بسیاری از روش های جداسازی مایکوباکتریوم های غیر سلی در اکوسیستم های آبی پرداختیم که قبلا شرح داده شده بودند.

مواد و روش ها: تعداد ۳۸ نمونه از آب های سطحی استان تهران جمع آوری شد. نمونه گیری آب در حجم ۲۰۰-۱۰۰ میلی لیتر صورت گرفت. ظروف حاوی آب بلافاصله به آزمایشگاه انتقال یافت و مورد بررسی قرار گرفت. سه روش آلودگی زدایی (Tacquet-Tison, Cetylpridinium chloride, Petroff) برای جداسازی مایکوباکتریوم ها به صورت موازی برای هر ۳۸ نمونه از آب های سطحی انجام شد. برای هر روش یک ترکیب ویژه از روش ضد عفونی تعریف شد. اثر هر یک از روش ها با محاسبه میزان آلودگی محیط های کشت، متوسط تعداد کلنی مایکوباکتریوم های رشد کرده و تعداد گونه های مایکوباکتریومی مختلف جدا شده مشخص شد. درآخر برای تایید جدایه های مایکوباکتریومی از تست PCR نیز استفاده شد.

یافته ها: ضد عفونی با CPC به نظر می رسد بهترین روش آلودگی زدایی باشد. این روش از یک سو به طور معنی داری میزان میکروارگانیسم های غیر هدف را کاهش داد و از سوی دیگر کمترین اثر مهاری را بر روی گونه های NTM مورد مطالعه داشت.

نتیجه گیری: هدف ما برای بررسی روش های مختلف شناخته شده برای مهار رشد میکروارگانیسم های غیر هدف بود، با در نظر گرفتن این مطلب که روش بکار گرفته شده کمترین اثر مهاری را بر رشد NTM داشته باشد. مطابق با این بررسی، روش آلودگی زدایی CPC بهترین روش جداسازی مایکوباکتریوم ها ی غیر سلی از نمونه های آب در این مطالعه بود.

واژگان کلیدی: مایکوباکتریوم غیرسلی(NTM)، روش های آلودگی زدایی، اکوسیستم آبی

مقدمه:

مایکوباکتریوم ها یکی از مهم ترین جنس های باکتریایی از لحاظ پزشکی و اکولوژیک محسوب می شوند. به دو دسته مایکوباکتریوم توبرکلوزیس کمپلکس (MTBC)[۱] و انواع مایکوباکتریوم های غیر سلی (NTM)[۲] تقسیم می گردند(۲۳). تاکنون بیش از ۱۷۰ گونه میکروبی متعلق به جنس مایکوباکتریوم[۳] مورد شناسایی قرار گرفته است که تنوع

آدرس نویسنده مسئول : گروه زیست شناسی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد پرند، تهران ، ایران
Email :saeedzaker20@yahoo.com
تاریخ دریافت مقاله: ۹۳/۲/۲۴
تاریخ پذیرش: ۹۳/۵/۲۸

۱ *Mycobacterium* tuberculosis complex
۲ Non-Tuberculous Mycobacteria
۳ *Mycobacterium*

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-02-21]
[DOR: 20.1001.1.22285458.1393.4.15.13.0]

بالایی در بیماری زایی، تطابق با محیط، پاتوژنیسیتی[1]، پاسخ به دارو و ویژگی های رشد دارند(۷). مخزن انواع مایکوباکتریوم های غیر سلی خاک و آب می باشد که به صورت پاتوژن های نو ظهور[2] می توانند برای انسان و حیوان به صورت فرصت طلب ایجاد بیماری نمایند(۱۷،۲۳). غالب عفونت های ناشی از مایکوباکتریوم های غیر سلی از طریق آب و تماس با خاک ایجاد می شوند و پدیده انتقال انسان به انسان گزارش نشده است ولیکن در مواردی عفونت های بیمارستانی از آن ها گزارش شده است(۷،۱۶). محیط زیست منبع پراکنده ای از NTM ها است. می توان از انواع اکوسیستم های آبی از جمله آب های طبیعی، فاضلاب، آب آشامیدنی، آب مراکز تفریحی، پارک ها و آب های صنعتی آن ها را جدا نمود. حتی جداسازی آن ها ازآب بیمارستان ها نیز گزارش شده است.

به منظور اندازه گیری میزان شیوع NTM در اکوسیستم های مختلف آبزی، نیاز به استانداردسازی و مقایسه روش های جداسازی مورد استفاده می باشد. برای جداسازی NTM های محیطی، استفاده از روش هایی که در میکروب شناسی بالینی استفاده می شود سازگار نیست. نمونه های آب سطحی کاملا متفاوت از نمونه های بالینی است، چرا که به غیر از NTM شامل جوامع بسیار متنوع باکتریایی می باشد(۵). این تنوع میکروبی باعث می شود که گونه های NTM به علت رشد کند نسبت به سایر میکروارگانیسم ها در محیط کشت غنی از مواد مغذی جدا نشوند. اگر چه بسیاری از روش های جداسازی که برای نمونه های بالینی توسعه داده شده است، برای نمونه های محیطی انجام گرفته است اما هیچ توافقی برای آلودگی زدایی نمونه های محیطی از این مطالعات پدید نیامده است(۱،۲۲).

الگوی انتشار جغرافیایی مایکوباکتریوم غیر سلی در ایران به خوبی مطالعه نشده است. **شواهد علمی حکایت از وخامت اوضاع در رابطه با عفونتهای ناشی از مایکوباکتریوم‌های غیرتوبرکلوزی دارد**. مطالعات تاکید بسیاری بر ضرورت شناسایی حضور مایکوباکتریوم های غیرسلی در آب و پیداکردن راه حل برای کنترل اینگونه آلودگی ها دارند(۱۷). روش های مختلفی برای جداسازی NTM از محیط وجود دارد اما برای شناسایی منابع و مخازن زیست محیطی آلوده به مایکوباکتریوم غیر سلی یک روش قوی و استاندارد لازم است. هدف از این مطالعه، توسعه و اعتبار یک روش بهبود یافته برای شناسایی و جداسازی NTM در سطح آب بود.

مواد و روش ها:

کشت مایکوباکتریوم نیاز به انکوباسیون طولانی مدت محیط های کشت غنی دارد. بنابراین مهار میکروارگانیسم هایی که به سرعت رشد می کنند و مانع مشاهده کلنی های مایکوباکتریومی می شوند دارای اهمیت است. در این مطالعه، دو معیار میزان مهار میکروارگانیسم های غیر هدف و بالا بردن رشد مایکوباکتریوم ها برای ارزیابی روش های مورد استفاده بررسی شد.

ایزوله مایکوباکتریوم های غیر سلی

تعداد ۳۸ نمونه از آب های سطحی استان تهران جمع آوری شد. نمونه گیری آب با رعایت تکنیک های آسپتیک و در ظروف استریل در حجم ۲۰۰-۱۰۰ میلی لیتر صورت گرفت. ظروف حاوی آب بلافاصله به آزمایشگاه انتقال یافت و مورد بررسی قرار گرفت. نمونه های آب با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ (۱۵ دقیقه با دور rpm۶۰۰۰) سانتریفیوژ شدند. رسوب حاصل به سه روش آلودگی زدایی شد. رسوب حاصل به حجم یک میلی لیتر در میکروتیوپ استریل ۱/۵ریخته و به اندازه هم حجم آن محلولcetylpyridiniumchloride) CPC) اضافه نمودیم. نمونه ها را به مدت ۲۵ دقیقه میکس نموده و سپس در دور rpm ۱۰۰۰۰ به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ کردیم. مایع رویی دور ریخته شده و به رسوب حاصل ۵۰۰ میکرولیتر آب مقطر استریل اضافه شد تا باقی مانده CPC را خنثی کند(۱۳). بعد از انجام سانتریفیوژ، آلودگی زدایی با استفاده از محلول حاوی SDS و NaOH انجام شد و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق شیک شد. سپس نمونه ها در دور rpm۵۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند، مایع رویی را دور ریخته سپس رسوب حاصل را با HCL خنثی و در دو لوله مجزا کشت دادیم(۲۰). بعد از انجام سانتریفیوژ، آلودگی زدایی با استفاده از محلول حاوی NaOH انجام شد و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق شیک شد. سپس نمونه ها در دور rpm۵۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند، مایع رویی را دور ریخته سپس رسوب حاصل را با HCL خنثی و در دو لوله مجزا کشت دادیم (۱۵). دترجنت های مورد استفاده در روش آلودگی زدایی در غلظت

[1] Pathogenicity

[2] Emerging pathogens

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-02-21]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1393.4.15.13.0]

نام روش	معرف ضد عفونی	زمان ضد عفونی (دقیقه)	معرف خنثی سازی
Petroff	NaOH (4%)	۳۰	HCl (3%)
Tacquet-Tison	SDS (3%)-NaOH (1%)	۳۰	HCl (۱%)
Tacquet-Tison	SDS (3%)-NaOH (۲%)	۳۰	HCl (۱%)
Cetylpyridinium chloride	CPC (0.۰1%)	۳۰	H2O
Cetylpyridinium chloride	CPC (0.۰۵%)	۳۰	H2O

جدول۱. دترجنت های مورد استفاده در روش های آلودگی زدایی

های متفاوت مطابق با جدول شماره یک مورد استفاده قرار گرفت.

مقدار ۱۰۰ تا ۲۰۰ میکرولیتر به روی دو محیط لونشتاین جانسون کشت داده شد و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد گرماگذاری گردید. محیط های کشت یک روز درمیان به مدت دو ماه برای مشاهده پیدایش احتمالی کلنی مورد بررسی قرار گرفتند. پس از ظاهر شدن کلنی، رنگ آمیزی اسید فست به روش زیل نلسون انجام شد و هویت کلنی های ایزوله شده با تست های فنوتیپیک و بیوشیمیایی تعیین گردید و جواب ها با روش مولکولی PCR تایید نهایی شد (۳).

شناسایی بر اساس ویژگی های فنوتیپیک و بیوشیمیایی

برای شناسایی مایکوباکتریوم ها از تست های فنوتیپیک مانند بررسی کلنی، سرعت رشد و تولید پیگمان استفاده شد. سپس انواعی از تست های بیوشیمیایی مانند تست اوره آز، رشد در محیط مک کانگی آگار فاقد کریستا ل ویوله، تست کاتالاز، تست نیاسین، تست احیای نیترات و .. برای شناسایی و تعیین ویژگی های ایزوله جدا شده مورد استفاده قرار گرفت. همچنین از دو سویه مایکوباکتریوم فورچوئیتوم و مایکوباکتریوم توبرکلوزیس موجود در آزمایشگاه به عنوان استاندارد تست های فنوتیپیک استفاده شد(۱۱).

شناسایی وتایید مولکولی ایزوله ها

استخراج DNA: برای استخراج DNA از روش Boiling استفاده شد. کیفیت و کمیت DNA های استخراج شده با اسپکتوفوتومتر و همچنین الکتروفورز روی ژل مورد بررسی قرار گرفت. مقدار ۵ میکرولیتر DNA ژنومیک استخراج شده به میکروتیوپ افزوده و به حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر رسید. از پرایمر های TB_{11} و TB_{12}

TB_{f1}	5-ACC AAC GAT GGT GTG TCC AT-3
TB_{f2}	5-CTT GTC GAA CCG CAT ACC CT-3

جدول ۲. پرایمر های مورد استفاده برای تکثیر قطعه ۴۴۱bp ژن *hsp 65*

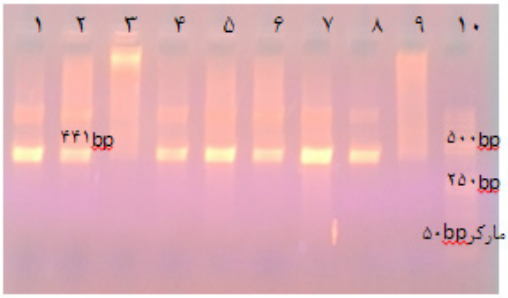
برای پی بردن به آلودگی احتمالی از کنترل منفی استفاده گردید که شامل همه اجزای PCR بدون DNA الگو بود. همچنین DNA یک سویه مایکوباکتریوم توبرکلوزیس به عنوان کنترل مثبت که تولید قطعه ای به طول ۴۴۱ جفت باز در واکنش PCR می کند، مورد استفاده قرار گرفت.

یافته ها:

در این مطالعه تعداد ۲۱ مایکوباکتریوم از ۳۸ نمونه آب های سطحی استان تهران جداسازی و شناسایی شدند. از این ۲۱ مایکوباکتریوم جداسازی شده، پانزده ایزوله تند رشد (در کمتر از ۷ روز کلنی آن ها به روی محیط کشت دیده شد) و شش ایزوله کند رشد و با رشد متوسط بودند. در بین نمونه های جداسازی شده سه باکتری نوکاردیا نیز مشاهده شد. بعد از استخراج DNA و انجام PCR بر روی ژن *hsp۶۵*، باند bp۴۴۱ مربوط به جنس مایکوباکتریوم ها به دست آمد که نشان دهنده نمونه های متعلق به مایکوباکتریوم ها است.

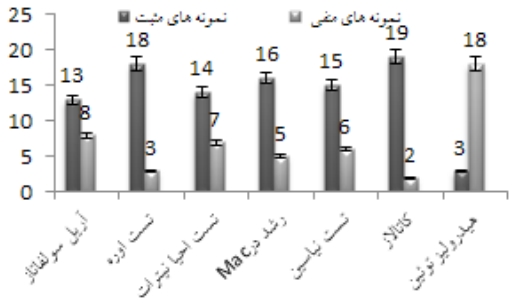
[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-02-21]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1393.4.15.13.0]

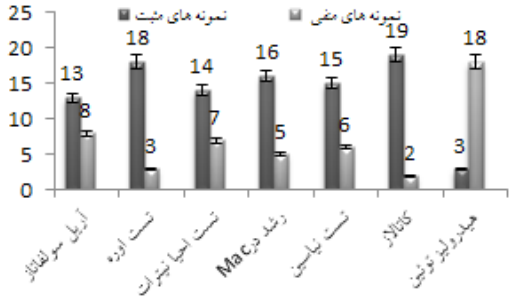


شکل۱. محصول تکثیر ژن *hsp65* به روی ژل آگارز ۱/۵٪ ردیف های ۱،۲،۴،۵،۶،۷،۸ دارای محصول در ناحیه bp ۴۴۱می باشند. ردیف ۱۰ نیز مارکر bp۵۰ را نشان می دهد.

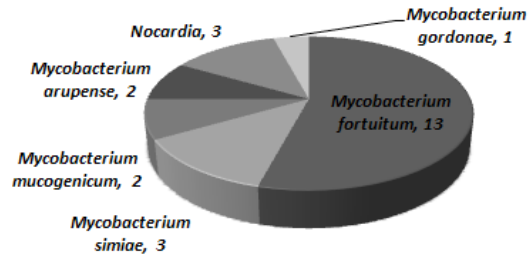
در روش پتروف، ماده شیمیایی تاثیر بسیار زیادی به روی مهار رشد قارچ ها و میکروارگانیسم های غیر هدف داشت. محیط های کشت دچار آلودگی نشد اما از طرفی ماده شیمیایی ضدعفونی کننده به روی رشد مایکوباکتریوم های غیر سلی نیز اثر منفی گذاشته و رشد آن ها را محدود کرد. افزودن غلظت NaOH ۱٪ در روش Tacquet-Tison هیچگونه اثر مهاری به روی رشد میکروارگانیسم های آلوده کننده محیط نداشت و به خاطر آلوده شدن محیط کشت، هیچ جداسازی از مایکوباکتریوم ها صورت نگرفت. زمانی که در همین روش غلظت NaOH ۲٪ استفاده شد، رشد سایر میکروارگانیسم ها تا حدودی مختل شد و مایکوباکتریوم های غیر سلی اجازه رشد پیدا کردند. روش CPC ، نسبت به تمامی روش ها نتایج موثرتری را نشان داد. تعداد و تنوع NTM های جداسازی شده در روش CPC بیان کننده این مطلب است که این روش با کمترین اثر منفی بر رشد NTM ها، حاوی ضدعفونی کننده مناسب برای حذف سایر میکروارگانیسم های آب های محیطی است. نتایج ما نشان داد که آلودگی زدایی نمونه های آب به مدت ۳۰ دقیقه با CPC (غلظت نهایی، ۰/۰۱ ٪) پس از کشت در محیط کشت غنی، به طور قابل توجهی کاهش رشد میکروارگانیسم های غیر هدف را نشان می دهد. پیشنهاد می شود که این روش می تواند به شکل استاندارد برای تشخیص NTM در نمونه های آبی استفاده شود.



نمودار۲. گزارش تست های بیوشیمیایی برای ایزوله های NTM



نمودار۲. گزارش تست های بیوشیمیایی برای ایزوله های NTM



نمودار۳. فراوانی مایکوباکتریوم های محیطی جداسازی شده

بحث:

اهمیت مطالعه مایکوباکتریوم ها از زوایای متعددی مطرح است. شیوع روزافزون عفونت های بیمارستانی ناسی از این باکتری ها به عنوان یکی از معضلات جدی سیستم های بهداشتی کشورهای جهان است. در صنعت شیلات به دلیل استفاده از آب های سطحی جهت رشد ماهی ها و گزارش هایی مبنی بر شیوع انواعی از عفونت های مایکوباکتریومی، اهمیت مطالعه این خانواده باکتریایی در منابع آب های سطحی دو چندان شده است(۴،۱۲). با اینکه مایکوباکتریوم توبرکلوزیس کمپلکس به عنوان عامل اصلی بیما یهای ریوی در انسان شناخته شده است، اما امروزه قدرت بیماریزایی مایکوباکتریوم های آتیپیک را کمتر از مایکوباکتریوم توبرکلوزیس کمپلکس نمی دانند. در ایران،

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-02-21]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1393.4.15.13.0]

م. فورچیتوم به عنوان گونه غالب از نمونه های بالینی گزارش گردیده است(۱۹،۹). همچنین در بعضی مطالعات اشاره گردیده است که م. کانزاسی و م. سیمیه گونه های بالینی شایع دیگر در ایران می باشند و م. آویوم به صورت نادر از نمونه های بالینی گزارش گردیده است. همچنین اشاره شده است که م. سیمیه به عنوان یک پاتوژن نوظهور از نمونه های بالینی بیماران مشکوک به سل در ایران جدا گردیده است(۸). این مطالعات می تواند مؤید این مطب باشد که الگوی انتشار مایکوباکتریوم های غیرسلی حتی می تواند در یک کشور نیز از یک منطقه به منطقه دیگر تفاوت جدی بین گونه هایی که باعث ایجاد بیماری می شوند را نشان دهد.

در مطالعه‌ای که در ایتالیا در سال ۲۰۱۰ توسط Briance و همکاران صورت گرفت، از مجموعه ۴۰ نمونه ای که از آب های بیمارستانی گرفته شده بود، ۷۰٪ آلوده به مایکوباکتریوم های محیطی تشخیص داده شدند(۲).

رفع آلودگی شیمیایی و میکروبی آب ها برای تشخیص NTM ها بسیار ضروری است. اگر چه روش فیلتراسیون از روش سانتریفوژ برای جداسازی مایکوباکتریوم ها از آب آشامیدنی و سطحی موثرتر گزارش شده است اما در این بررسی به علت گرفتگی سریع فیلتر توسط مقدار زیادی از ذرات معلق، روش سانتریفوژ برای جداسازی باکتری ها از نمونه های آب استفاده شد (۵).

در سال ۲۰۰۴، Parashar و همکاران برای جداسازی مایکوباکتریوم های زیست محیطی، از روش آلودگی زدایی استاندارد استفاده کردند. مطابق با این روش، آلودگی زدایی با سدیم دودسیل سولفات ۳٪ به اضافه سود ۴٪ سپس ستریماید ۲٪ انجام شد. این روش در این مطالعه به عنوان روشی موثر در از بین بردن تمامی آلودگی های محیطی و ایزوله خالص مایکوباکتریوم ها معرفی شد. در حالی که در مطالعه حاضر ضد عفونی با روش CPC به نظر می رسد بهترین روش برای کاهش سطح میکروارگانیسم های غیر هدف است. از سوی دیگر، به طور قابل توجهی کمترین اثر مهاری را برای مطالعه گونه های NTM دارد. اگر چه تعداد کم NTM های جداسازی شده امکان برآورد دقیق تنوع NTM را در زیستگاه های مورد مطالعه نمی دهد(۱۴).

در این مطالعه نشان دادیم که غلظت نهایی ۰/۱ ٪ CPC منجر به جداسازی بهینه NTM ها می شود. با این حال با مقایسه این غلظت با غلظت مورد استفاده در سایر مطالعات، دشوار است که این غلظت را به عنوان بهینه ترین روش معرفی کنیم. بنابراین با توجه به بررسی های انجام شده در این مطالعه و سایر یادداشت ها، غلظت نهایی CPC مورد استفاده را متناسب با میزان آلودگی و کدورت آب (لوله کشی و یا آب های سطحی) مورد بررسی در نظر می گیریم. Neumann و همکاران نیز از ۱۲ روش جداسازی مایکوباکتریوم های محیطی به صورت موازی استفاده کردند که تجزیه و تحلیل آماری نشان داد که هر دو روش TSB و ۰/۰۵ ٪ CPC مناسب بود(۱۳).

در ایران مطالعات محدودی به روی جداسازی مایکوباکتریوم ها از آب صورت گرفته است، می توان به مطالعه رهبر و همکارانش در سال ۲۰۱۰ که بر روی ۱۲۰ نمونه آب، از آب رودخانه ها، جویبارها و آب های آشامیدنی استان ارومیه انجام گردید اشاره کرد. در این مطالعه توانستند از ۱۲ نمونه که ۱۰٪ کل نمونه ها را شامل می شد با روش ۰/۰۵ ٪ CPC مایکوباکتریوم آتیپیک جدا کنند. بیشترین نمونه های آلوده را آب جویبارها و آب های سطحی به خود اختصاص دادند و باکتری غالب م. فورچوئیتوم بود(۲۴). در مطالعه کرمی و همکاران در مجموع ۷۰ نمونه آب از منابع آبی سطحی استان اصفهان برداشت و آلودگی زدایی با روش (Tacquet-Tison (SDS (۳٪)-NaOH (۱٪ صورت گرفت که در نهایت ۲۴ مایکوباکتریوم ایزوله شد(۱۰). همچنین قائمی و همکاران در مطالعه ای به بررسی NTM های خاک استان گلستان پرداختند که در آن اهمیت م. مارینوم در عفونت آبزیان و ماهیگیران مورد بحث قرار گرفته است. در مطالعه دیگری که در اصفهان توسط اصفهانی و همکارانش در سال ۲۰۱۱ انجام گرفت، ۲۱ مایکوباکتریوم آتیپیک جداسازی شد(۶).

مجموع این مطالعات، بر اهمیت فوق العاده منابع مختلف آب های سطحی(آب آشامیدنی، آب فواره ها، آب های رودخانه و ...) در انتشار مایکوباکتریوم های محیطی اشاره دارد.

نتایج حاصل در این بررسی می‌تواند به داده‌های سودمندی در رابطه با تعیین تنوع، پراکندگی، الگوی انتشار مایکوباکتریوم‌ها و همچنین توانایی روش های مختلف برای جداسازی برخی از گونه‌های موجود در ایجاد بیماری‌های عفونی نوپدید منجر

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-02-21]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1393.4.15.13.0]

گردد. همچنین این داده‌ها می‌تواند برای تدوین برنامه مبارزه با سل کشور و استان مورد استفاده قرار گیرد. نتایج نشان می دهد منابع تامین آب ممکن است به NTM های بسیار متنوع آلوده باشد که می تواند به طور بالقوه برای انسان مضر باشند. بنابراین، تعیین فراوانی NTM در منابع آب یک مسئله مهم برای بهداشت عمومی است. نتایج این مطالعه می تواند برای این منظور مفید باشد.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-02-21]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1393.4.15.13.0]

منابع:

1. Bange FC and Bo¨ttger E. Improved decontamination method for recovering mycobacteria from patients with cystic fibrosis.Eur. J Clin Microbiol Infect Dis, 2002; 21:546–548.
2. Briance R, Semproni M, Libera SD, Sdanganelli M, and Bonadonna L. Nontuberculous mycobacteria and microbial populations in drinking water distribution systems. Ann Ist super sanitA. 2010; 46: 254-8.
3. Buijtels PCAM and Petit PLC. Comparison of NaOH-N-acetyl cysteine and sulfuric acid decontamination methods for recovery of mycobacteria from clinical specimens. J Microbiol Methods, 2005; 62: 83–88.
4. Chang CT, Wang LY, Liao CY, Huang SP. Identification of nontuberculous Mycobacteria existing in tap water by PCR-restriction fragment length polymorphism. Appl Environ Microbiol. 2002; 68,6: 3159-3161.
5. Gasperi, J, Garnaud S, Rocher V and Moilleron R. Priority pollutants in surface waters and settleable particles within a densely urbanized area: case study of Paris (France). Sci. Total Environ. 2009; 407: 2900–2908.
6. Ghaemi E , Ghazi Saeedi K, Fatemi Nasab F ,Hashemzadeh Z, Vatani S, Mohammadi M. Mycobacterium Marinum infection in Caviar Fishes and Fisher's man in Caspian sea Province in North of Iran. J Bio Sci, 2006; 6,6: 1150-1152.
7. Gopinath K and Singh S. Non-tuberculous mycobacteria in TB-endemic countries: are we neglecting the danger?. PLoS neglected tropical diseases, 2010; 4,4: e615.
8. Hashemi-Shahraki A, Heidarieh P, Feizabadi MM, Deshmir-Salameh S, Khazaee S, Alavi SM. Mycobacterium simiae a possible emerging pathogen in Iran. J JID, 2013;66(6):475-9.
9. Hashemi-Shahraki A, Zaker Bostanabad S, Heidarieh P, Titov L P , Khosravi A, Sheikhi N, Ghalami M, Nojoumi A. Species Spectrum of Nontuberculous Mycobacteria Isolated from Suspected Tuberculosis Patients, Identification by Multi Locus Sequence Analysis. Infection, Genetics and Evolution, 2013; 24,20: 312-24.
10. Karami Mirabadi M, Dibaj R, Hashemi Shahraki A, Daei Naser A, Shahhosseiny M.H, Shojaei H. Isolation And Identification Of Non-tuberculosis Mycobacterium (ATYPIC) From In Water In Iran. J M B, 2012; 3,11; 29-34.
11. Kent PT, Kubica GP. Public Health Mycobacteriology: A Guide for the Level III Laboratory. Centers for Disease Control, U.S. Department of Health and Human Services, Atlanta: Ga.; 1985.
12. Martín-Casabona N, Bahrmand AR, Bennedsen J, Ostergaard Thomsen V, Cursio M, Fauville-Dufaux M. Non-tuberculous Mycobacteria: patterns of and water in iran. African J Biotech. isolation. A multi-country retrospective survey. Int J Tuberc Lung. Dis, 2004; 8, 10: 1186-1193.
13. Neumann M, Schulze-ro bbecke R, Hagnau C and Behringer K. Comparison of Methods for Isolation of Mycobacteria from Water. AEM, 1997: 547–552.
14. Parashar D, Chauhan DS, Sharma VD, Chauhan A, Chauhan S and Katoch VM. Optimization of Procedures for Isolation of Mycobacteria from Soil and Water Samples Obtained in Northern India. AEM, 2004: 3751–3753.
15. Petroff SA. A new and rapid method for the isolation and cultivation of the tubercle bacillus directly from sputum and feces. J. Exp. Med. 1915; 21: 38.
16. Phillips MS and Von Reyn CF. Nosocomial infections due to nontuberculous mycobacteria. Clinical infectious diseases, 2001; 33,8 : 1363-1374.
17. Primm TP, Lucero CA and Falkinham JO. Health impacts of environmental mycobacteria. Clinical microbiology reviews, 2004; 17, 1: 98-106.
18. Rahbar M, Lamei A, Babazadeh H, Yavari SA. Isolation of rapid growing Mycobacteria from soil. and water in iran. African J Biotech, 2010; 9, 24: 3618-3621.
19. Shojaei, H, Heidarieh P, Hashemi A, Feizabadi MM, Daei Naser A. Species identification of neglected nontuberculous mycobacteria in a developing country. JJID, 2011; 64, 4: 265-271.
20. Tacquet A and Tison F. Nouvelle technique d'isolement des mycobacte ´ries par le lauryl sulfate de sodium. Ann. Inst. Pasteur (Paris). 1961; 100: 676–680.
21. Telenti A, Marchesi F, Balz M, Bally F, Böttger E, Bodmer T. Rapid Identification of Mycobacteria to the Species Level by Polymerase Chain Reaction and Restriction Enzyme Analysis. J Clin Microbiol, 1993; 31: 175–178.
22. Thomson R, Carter R, Gilpin C, Coulter C and Hargreaves M. Comparison of methods for processing drinking water samples for the isolation of Mycobacterium avium and Mycobacterium intracellulare. Appl. Environ. Microbiol. 2008; 74: 3094–3098.
23. Tortoli, E. Clinical manifestations of nontuberculous mycobacteria infections. Clinical Microbiology and Infection, 2009;15(10):906-910.
24. Whitman WB, Coleman DC, and Wiebe WJ. Prokaryotes: the unseen majority. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 1998; 95:6578–6583.

.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-02-21]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1393.4.15.13.0]