

Evaluation and Molecular Comparison of *Mycobacterium tuberculosis* Strains Isolated from Iranian and Afghan Immigrants in Tehran

Banafsheh Nasiri

Department of biology, Young Researchers and Elite Club, Arsanjan branch, Islamic Azad University, Arsanjan, Iran

Article Information

Article history:

Received:2014/05/17
Accepted:2014/06/23
Available online:2014/07/20

Article Subject:

Molecular Epidemiology

IJMM 1393; 8(2): P 22-27

Corresponding author at:

Mrs. Banafsheh Nasiri

Department of biology, Young
Researchers and Elite Club,
Arsanjan branch, Islamic Azad
University, Arsanjan, Iran

Email:

n_violet@yahoo.com

Abstract

Background and Aim: To determine tuberculosis transmission dynamics and relative contribution of infection acquired in Tehran and reactivation of tuberculosis infection acquired elsewhere in Afghan immigrants persons who developed tuberculosis in Tehran, and to determine the frequency of tuberculosis other person..

Materials and Methods: The study population consisted of Afghan immigrants and Iranian tuberculosis patients reported in Tehran from 2008 to 2009. Restriction fragment length polymorphism (RFLP) typing was performed on *Mycobacterium tuberculosis* patient using IS6110 as a probe. Patients were assigned to clusters based on *Mycobacterium* isolated with identical DNA fingerprints. Clusters were assumed to have arisen from recent transmission.

Results: From 291 isolates, 60 were clustered in 25 clusters . (72%) contained 43 Iranian TB cases and (8%) had 4 Afghan patients. The remaining clusters , were contained both Iranian and Afghan TB cases. of the 60 Afghan immigrant patients studied, 5(8.4%) were clustered in 5 cluster and 55(91.6%) met the definition of reactivation of infection acquired elsewhere.

Conclusions: During the studied period, reactivation of a previous infection remain the more probable cause of recurrence. 8.4% of Afghan immigrants' patients who developed tuberculosis infection in Tehran, transmission from Afghan immigrants' patients leading to tuberculosis in other persons is uncommon.

Key Words: Afghan immigrants, RFLP, Tuberculosis transmission., Molecular Epidemiology

Copyright © 2014 Iranian journal of medical microbiology. All rights reserved.

How to cite this article:

Nasiri B. Evaluation and Molecular Comparison of *Mycobacterium tuberculosis* Strains Isolated from Iranian and Afghan Immigrants in Tehran. Iran J Med Microbiol. 2014; 8 (2) :22-27

ارزیابی و مقایسه مولکولی سوش های مایکوباکتریوم توبرکلوزیس جدا شده از افراد ایرانی و مهاجران افغانی در شهر تهران

بنفشه نصیری

گروه زیست شناسی، عضو باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارسنجان، ارسنجان، ایران

چکیده

اطلاعات مقاله

زمینه و اهداف: بررسی سیر انتقال بیماری سل در تهران و ارتباط آن با منشأ عفونت کسب شده مایکوباکتریوم توبرکلوزیس در مهاجران افغانی و تعیین اینکه عفونت موجود در آنها بر اثر فعال شدن مجدد عفونت است که منشأ آن جایی دیگر به غیر از تهران است، یا اینکه عفونت را از طریق انتقال اخیر کسب کرده اند و بررسی الگوی انتقال توبرکلوزیس در افراد تهرانی که مورد آزمایش قرار گرفته اند.

مواد و روش کار: جمعیت مورد مطالعه شامل نمونه های بیماران ایرانی و مهاجران افغانی مراجعه کننده به مرکز آموزشی پژوهشی سل و بیماریهای ریوی در سالهای ۱۳۸۶ و ۱۳۸۷ بودند. تعیین گونه مایکوباکتریوم توبرکلوزیس به روش انگشت نگاری ژنتیکی (RFLP) با استفاده از IS6110 به عنوان پروب صورت گرفت. بیماران با الگوی ژنتیکی مشابه انگشت نگاری ژنتیکی در یک گروه قرار گرفتند. این افراد بیماری را از طریق عفونت اخیر کسب کرده بودند.

یافته ها: از ۲۹۱ نمونه مورد بررسی، ۶۰ نمونه در ۲۵ دسته قرار گرفتند، (۷۲٪) شامل ۴۳ بیمار ایرانی، (۸٪) شامل ۴ بیمار افغانی و بقیه دسته ها شامل هر دو افراد ایرانی و افغانی بود. از ۶۰ بیمار مهاجر افغانی مورد مطالعه، ۵ (۸٪) نفر در ۵ دسته قرار داشتند، و (۹۱/۶٪) ۵۵ نفر بیماری را بر اثر فعال سازی مجدد عفونت کسب کرده بودند.

نتیجه گیری: در این بررسی، مشخص شد که فعال شدن مجدد عفونت در سیر بیماری سل می تواند نقش داشته باشد. ۸/۴٪ از مهاجران افغانی در توسعه بیماری سل در افراد تهرانی مورد مطالعه نقش داشتند. انتقال بیماری از مهاجران افغانی به بقیه افراد مبتلا به بیماری ایرانی غیر معمول است.

کلمات کلیدی: مهاجران افغانی، انتقال توبرکلوزیس، RFLP، اپیدمیولوژی مولکولی

کپی رایت © حق چاپ، نشر و استفاده علمی از این مقاله برای مجله میکروبی شناسی پزشکی ایران محفوظ است.

تاریخچه مقاله

دریافت: ۱۳۹۱/۰۲/۲۰

پذیرش: ۱۳۹۳/۰۴/۱۵

انتشار آنلاین: ۱۳۹۳/۰۵/۲۶

موضوع:

اپیدمیولوژی مولکولی

IJMM 1392; 8(2): P 22-27

نویسنده مسئول:

خانم بنفشه نصیری

گروه زیست شناسی، باشگاه
پژوهشگران جوان و نخبگان
دانشگاه آزاد اسلامی واحد
ارسنجان، ارسنجان، ایران

تلفن: ۰۹۱۷۳۰۰۳۰۱۱

پست الکترونیک:

Bn_violet@yahoo.com

مقدمه

بیماریایی به طور معمول فعال شدن مجدد عفونت نهفته بیماری سل است (۳،۴).

در برنامه کنترلی بیماری سل، تمایز بین عفونت اخیر و عود مجدد در جمعیت های مورد مطالعه از اهمیت خاصی برخوردار است (۴).

در اپیدمیولوژی مولکولی، پراکندگی و انتشار بیماری در جمعیت های انسانی با استفاده از تکنیک های مولکولی مورد ارزیابی قرار می گیرد (۴،۵). انگشت نگاری ژنتیکی بر پایه

در طول دو دهه گذشته، مهاجران از کشورهای همسایه به ایران هجوم آورده اند. مهمترین جمعیت مهاجر از کشورهای همسایه که به ایران مهاجرت کرده اند مهاجرین افغانی هستند. افغانستان از جمله کشورهای با شیوع بالای بیماری سل است، به طوری که طبق گزارش آمار سازمان بهداشت جهانی شیوع سل در این کشور ۱۸۹ مورد در هر ۱۰۰۰۰۰ است (۱،۲). مکانیسم توسعه بیماری سل در میان مهاجران از نظر ناحیه اپیدمیولوژیکی به طور قابل ملاحظه ای متفاوت است. مهمترین فاکتور

هضم شده با آنزیم PVUII به عنوان مارکر خارجی بر روی ژل الکتروفورز در کنار نمونه های مورد آزمایش قرار گرفت. در مورد مایکوباکتریوم توبرکلوزیس هایی که تعداد کپی IS6110 آنها کمتر از ۳ بود در این تحقیق از روش اسپولیگوتایپینگ برای تعیین گونه استفاده شد. بعد از ظهور فیلم الگوی های بدست آمده از ژنوم مایکوباکتریوم توبرکلوزیس بوسیله نرم افزار Gel compare 3.1 مورد آنالیز قرار گرفت (۱۲). بیماران بر اساس الگوی مشابه از مایکوباکتریوم توبرکلوزیس در گروه مشابه قرار گرفتند.

آنالیز آماری بر روی دو گروه Cluster و Noncluster از طریق chi-square برای مقایسه دو میانگین و به دست آوردن P-value بود. ($P\text{-value} < 0/05$ معنادار در نظر گرفته شد).

یافته ها

جمعیت مورد مطالعه

در طول سالهای ۱۳۸۷-۱۳۸۶ از نمونه های توبرکلوزیس مثبت، گزارش شده به مرکز آموزش پژوهشی سل و بیماری های ریوی ۲۹۱ مورد، مناسب برای تحقیق بود. اطلاعات اپیدمیولوژی این بیماران که شامل سن، جنس، ملیت، سابقه درمان قبلی بیماری سل و تاریخچه در معرض قرارگرفتن بیماری سل بود، بدست آمد. از بین ۲۹۱ بیمار مورد بررسی، ۲۳۱ (۷۹/۴٪) ایرانی و ۶۰ (۲۰/۶٪) افغانی بودند. میانگین سنی ۴۷ و ۳۸ سال به ترتیب در مهاجران افغانی و افراد ایرانی بود. بیماران مورد بررسی در این مطالعه شامل ۳۸/۳٪ زن و ۶۱/۷٪ مرد را شامل می شد. از بین موارد مورد آنالیز ۴۶ (۱۵/۸٪) مورد، مقاومت دارویی مشاهده شد. سابقه فامیلی در بین افراد ۲۰/۶٪ بود. بررسی پرسشنامه اپیدمیولوژیک نشان داد ۲۶۶ (۹۱/۴٪) بیمار، دارای شرایط بد معیشتی و فقر بودند.

تنوع RFLP

از آنالیز نمونه های مورد بررسی ۲۹۱ گونه مایکوباکتریوم توبرکلوزیس، ۲۵۶ الگوی متفاوت RFLP بدست آمد. ۲۳۱ گونه (۷۹/۶٪) الگوی ژنتیکی منحصر به فرد داشتند و جزء گروه غیر دسته ای قرار گرفتند. ۶۰ گونه باقی مانده (۲۱/۴٪) در ۲۵ گروه دسته ای قرار گرفتند. ۴۴ (۷۳/۳٪) بیمار در ۲۲ گروه قرار گرفتند اکثر دسته ها شامل ۲ یا ۳ بیمار بود. دو دسته هم نیز شامل ۵ بیمار بود. (جدول ۱)

IS6110، یک روش مولکولی است که گونه های مایکوباکتریوم را بر اساس تفاوت در جایگاه و تعداد IS6110 بر روی ژنوم باکتری جداسازی می کند (۳،۴،۵). الگو های حاصل از انگشت نگاری های بدست آمده، نتایج متفاوتی را در مورد نحوه پراکندگی اپیدمیولوژیکی نشان می دهد بر اساس آن، الگوی یکسان از انگشت نگاری های نمونه های مایکوباکتریوم توبرکلوزیس می تواند نشان دهنده انتقال اخیر باشد و الگوهای متفاوت نشان دهنده فعال شدن عفونت قبلی می باشد (۶،۷).

روش های مولکولی به کمک روش های اپیدمیولوژیک، برای کمک به فهم بهتر در مورد انتقال بیماری سل در تهران و ارتباط آن با مهاجران افغانی به کار برده می شود (۸).

تعیین الگوی انتقال بیماری سل و شناسایی زیر گروههای با ریسک بالا برای ابتلا به این بیماری به منظور آسان کردن و هدفمند کردن برنامه کنترل بیماری سل می باشد (۸).

در این تحقیق، الگوی انگشت نگاری ژنتیکی به دست آمده از بیماران مبتلا به سل ایرانی و جمعیت مهاجر افغانی و عوامل خطر در ارتباط با گروه های دسته ای و غیر دسته ای مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش ها

نمونه های مورد آزمایش شامل ۲۹۱ نمونه مایکوباکتریوم توبرکلوزیس کشت داده شده از بیماران مراجعه کننده به مرکز آموزشی پژوهشی سل و بیماری های ریوی مسیح دانشوری در طول سالهای ۱۳۸۷-۱۳۸۶ بود. در ابتدا نمونه های مورد نظر بر روی محیط Lowenstein - Jensen کشت داده شد. کلنی های رشد کرده بر اساس تست های استاندارد بیوشیمیایی که شامل نیاسین، کاتالاز، احیاء نیترات، تولید پیگمانت و سرعت رشد بود، مایکوباکتریوم توبرکلوزیس تشخیص داده شد. در مورد تمام نمونه ها تست حساسیت به پادزیست های ایزونیاژید، ریفامپین، اتامبوتول و استرپتوماکسین انجام شد (۹). استخراج DNA از نمونه ها به روش کلروفرم ایزوامیل (۱۰) و انگشت نگاری ژنتیکی بوسیله روش استاندارد Van Embden et al صورت گرفت (۹،۱۰،۱۱). در این آزمایش برای شکستن اختصاصی قطعات DNA در محل اختصاصی IS6110 آنزیم PVUII مورد استفاده قرار گرفت. بعد از هضم قطعات مورد نظر، الکتروفورز و با نشانگر IS6110 هیبریدسازی صورت گرفت. نشانگر های IS6110 بوسیله سیستم با خاصیت کیمی لومینسنس نشاندار شد. در مورد این نمونه ها از گونه های مایکوباکتریوم توبرکلوزیس مرجع

جدول ۱ الگوی ژنتیکی براساس IS6110 مایکوباکتریوم توبرکلوزیس مربوط به بیماران ایران و افغانی در ۲۵ گروه دسته ای

شماره دسته	تعداد بیمار	ملیت	الگوی ژنتیکی بر اساس IS6110 مایکوباکتریوم توبرکلوزیس
1	2	ایرانی-افغانی	
2	2	ایرانی	
3	2	افغانی	
4	2	ایرانی	
5	2	ایرانی-افغانی	
6	2	ایران	
7	2	افغانی	
8	2	ایرانی	
9	2	ایرانی	
10	2	ایرانی-افغانی	
11	2	ایرانی	
12	2	ایرانی	
13	3	ایرانی	
14	2	ایرانی	
15	2	ایرانی	
16	2	ایرانی	
17	3	ایرانی	
18	2	ایرانی	
19	2	ایرانی-افغانی	
20	2	ایرانی	
21	2	ایرانی	
22	3	ایرانی	
23	3	ایرانی	
24	5	افغانی ۱ - ایرانی ۴	
25	5	ایرانی	

آنالیز بیماران غیر دسته ای

بیماران ایرانی: از ۲۹۱ نمونه مورد بررسی، ۲۳۱ (۷۹/۶٪) نمونه مربوط به افراد ایرانی بودند. ۱۸۰ (۷۸٪) نمونه ها الگوی ژنتیکی تک داشتند و جز گروه غیر دسته ای قرار گرفتند (جدول ۱، الگوریتم ۱، ۲)

بیماران افغانی: از ۲۹۱ نمونه مورد بررسی، ۶۰ (۲۰/۶٪) نمونه مربوط به افراد افغانی بودند. ۵۱ (۸۵٪) نمونه در گروه غیر دسته ای قرار گرفتند (جدول ۱، الگوریتم ۱، ۲)

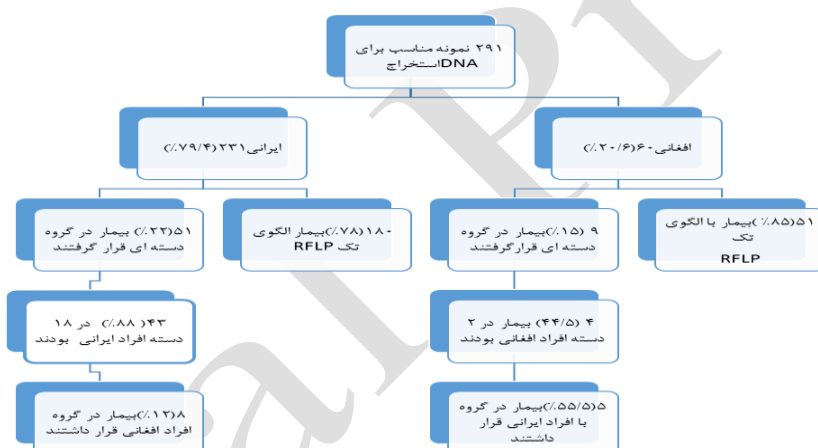
آنالیز بیماران دسته ای

بیماران ایرانی: از ۶۰ نمونه بیمار که در ۲۵ دسته قرار گرفتند، ۵۱ نمونه مربوط به افراد ایرانی بود. از ۵۱ بیمار موجود در گروه دسته ای، ۴۳ مورد در ۱۸ گروه قرار داشتند.

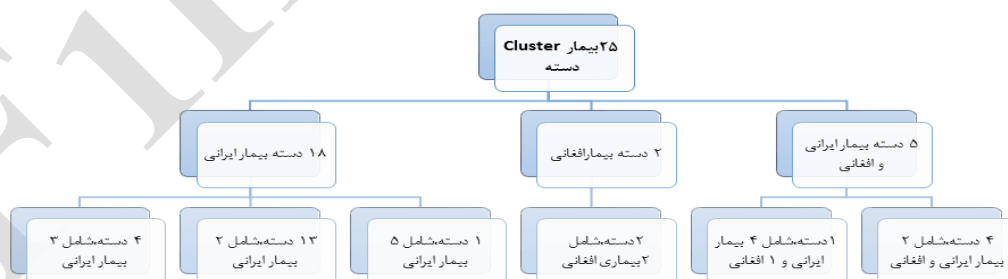
الگوی قرار گرفتن افراد در ۱۸ دسته به این صورت بود که، در مورد ۴ دسته ۳ نفره، هر ۴ دسته بیماران ایرانی بودند. دسته ۵ نفره، نیز بیماران ایرانی را شامل می شد. بزرگترین دسته های مورد آنالیز همه بیماران ایرانی بودند (جدول ۱، الگوریتم ۱، ۲)

بیماران افغانی: از ۶۰ نمونه بیمار که در ۲۵ دسته قرار گرفتند، ۹ نمونه مربوط به افراد افغانی بود. از ۹ بیمار موجود در گروه دسته ای، ۴ مورد در ۲ گروه قرار گرفتند (جدول ۱، الگوریتم ۲، ۱).

بیماران ایرانی و افغانی: از بین ۲۵ دسته، ۴ دسته شامل هر دو گروه بیماران ایرانی و افغانی بود. در یک دسته شامل ۵ بیمار، ۱ بیمار افغانی و ۴ بیمار دیگر ایرانی بودند (جدول ۱، الگوریتم ۲، ۱).



الگوریتم ۱: نحوه قرار گرفتن افراد ایرانی و افغانی در گروه دسته ای و غیر دسته ای بر اساس الگوی IS6110



الگوریتم ۲: نحوه قرار گرفتن افراد ایرانی و افغانی در ۲۵ دسته

اطلاعات اپیدمیولوژیکی در مورد بیماران دسته ای

از ۲۵ دسته بدست آمده، ۱۸ (۷۲٪) دسته افراد ایرانی، ۲ (۸٪) دسته بیماران افغانی و ۵ (۲۰٪) دسته هر دو افراد ایرانی و افغانی بود. میانگین سنی افراد ایرانی $43/15 \pm 19$ (SD) و میانگین افراد افغانی $37/16 \pm 8$ (SD) به دست آمد. طبق پرسشنامه اپیدمیولوژیک سابقه خانوادگی ۲۱/۵٪ بود ($p > 0/05$). الگوی مقاومت چند دارویی در افراد ایرانی و افغانی که در عفونت اخیر نقش داشتند ۱۵/۶٪ و ۱۱/۱٪ بود ($p > 0/05$) (جدول ۲).

در بین گونه های مقاوم MDR-TB، ۷۸/۲٪ در گروه غیر دسته ای و ۲۱/۸٪ در گروه دسته ای قرار داشتند. از ۴۶ مورد

مورد مقاومت دارویی ۸ (۱۷/۴٪) نمونه افراد افغانی بود ($p > 0/05$) (جدول ۲).

از طریق اطلاعات اپیدمیولوژیکی بیماران ایرانی، ارتباط بین نوع الگوی ژنتیکی در بیماران دسته ای که عفونت را از طریق انتقال اخیر کسب کرده بودند با شرایط زندگی بدست آمد (۹۰/۵٪) ($p < 0/05$) (جدول ۲).

همچنین با بررسی اطلاعات اپیدمیولوژیکی بیماران افغانی مشخص شد که این ۷ بیمار بعد از ورود به ایران و با وارد شدن در جمعیت بسته دچار بیماری شده اند (۱۰۰٪) ($P < 0/05$) (جدول ۲).

جدول ۲ عوامل خطر در گروه دسته ای و غیر دسته ای بیماران ایرانی و افغانی

ملیت	بیماران غیر دسته ای		بیماران دسته ای	
	ایرانی ۱۸۰ (۷۸٪)	افغانی ۵۱ (۸۵٪)	ایرانی ۵۱ (۲۲٪)	افغانی ۹ (۱۵٪)
مرد	۱۰۰ (۵۵/۵٪)	۳۱ (۵۸/۸٪)	۲۹ (۵۶/۸٪)	۵ (۵۵/۵٪)
زن	۸۶ (۴۷/۷٪)	۲۱ (۴۱/۱٪)	۲۲ (۴۳/۱٪)	۴ (۴۴/۴٪)
شرایط نامساعد معیشتی	۱۶۳ (۹۰/۵٪)	۴۷ (۹۲/۱٪)	۴۷ (۹۲٪)	۹ (۱۰۰٪)
سابقه خانوادگی	۲۶ (۱۴/۴٪)	۲۲ (۴۳٪)	۱۱ (۲۱/۵٪)	۴ (۴۴٪)
مقاومت چند دارویی (MDR)	۲۹ (۱۶/۱٪)	۷ (۱۳/۲٪)	۹ (۱۵/۶٪)	۱ (۱۱/۱٪)
حساس به چند دارو	۳۳ (۱۸/۳٪)	۳۲ (۶۲/۷٪)	۶ (۱۱/۷٪)	۵ (۵۵/۵٪)

از ۴۶ مورد مقاومت دارویی ۸ (۱۷/۴٪) نمونه افراد افغانی بود، انتقال نمونه های مقاوم از سوی افراد مهاجر در جمعیت غیر معمول است ($P > 0/05$).

در فاکتورهای ریسک مورد بررسی مانند سن، جنس، سابقه فامیلی و مقاومت دارویی، حساسیت دارویی ارتباطی با گروه دسته ای مشخص نشد ($P > 0/05$).

اخیرا بررسی ها پیشنهاد می کند برگشت دوباره عفونت در شیوع بیماری سل نقش دارد و اکثر موارد برگشت دوباره عفونت در بین افراد بی خانمان، الکلی و HIV مثبت مشاهده می شود (۱۶،۱۷). در این مطالعه، فاکتور ریسک مصرف الکل و HIV مورد بررسی قرار نگرفت، در مورد شرایط بد معیشتی پاسخنامه افراد مورد بررسی نشان داد که این شرایط در ۲۶۶ (۹۱/۴٪) بیمار

بحث

از نمونه های مورد بررسی، ۷۹/۴٪ نمونه ها ناشی از عود، یا فعال شدن مجدد بیماری بود. این یافته مشخص می کند که دلیل سل فعال در این جمعیت فعال شدن مجدد عفونت می باشد. برگشت عفونت می تواند بعد از درمان ناقص صورت گیرد، که این عامل می تواند به توسعه گونه های مایکوباکتریوم توبرکلوزیس در جمعیت منجر شود (۱۳،۱۴،۱۵). از آنجایی که گونه های مقاوم MDR-TB در گروه غیر دسته ای نیز ۷۸/۲٪ به دست آمد ($P < 0/05$) احتمال توسعه گونه های مقاوم در جمعیت را بیشتر می کند. برای جلوگیری از این عامل مراقبت و تحت نظر داشتن این بیماران و مصرف صحیح دارو در این افراد باید مورد توجه قرار گیرد (۱۵).

کسب کرده اند تا اینکه عفونت از نوع اخیر باشد (۱۹،۲۰)، که بیانگر این موضوع است که بهبود شرایط بهداشتی و معیشتی در بین این افراد می تواند ریسک انتقال به بیماری سل را در جمعیت کاهش دهد.

تشکر و قدردانی

این پژوهش در آزمایشگاه رفرانس سل کشوری مرکز آموزشی پژوهشی سل و بیماری های ریوی مسیح دانشوری انجام شد. بر خود لازم می دانم از تمام افرادی که در این مرکز مرا یاری دادند تقدیر و تشکر نمایم.

تعارض منافع:

بین نویسندگان هیچ تعارضی وجود ندارد.

در هر دو گروه دسته ای و غیر دسته ای می تواند فاکتور افزایش ریسک در انتقال بیماری سل باشد.

بر اساس مطالعات آماری مهاجران افغانی می تواند در انتقال بیماری سل در جمعیت کشور میزبان دخیل باشند (۱۸،۱۹). در این بررسی از ۶۰ بیمار مهاجر افغانی مورد مطالعه، ۵ (۸/۴٪) نفر در ۵ دسته در انتقال اخیر نقش داشتند، و الگوی ژنتیکی تک و غیر تکراری ژنوم مایکوباکتریوم توبرکلوزیس بدست آمده از (۹۱/۶٪) ۵۵ بیمار افغانی مبتلا به سل بیانگر این موضوع بود که اکثر آنها بیماری را از طریق فعال سازی مجدد عفونت قبلی کسب کرده اند.

این یافته از این فرضیه حمایت می کند که بیماری در افراد مهاجر ناشی از فعال سازی عفونت است که قبل از ورود به کشور

References

- Ferrera A, Hoffner S E, Garcia L P. DNA fingerprinting of mycobacterium tuberculosis strains from patient with pulmonary tuberculosis in Honduras. J Clin Microbiol. 1997; 35(9):2393-2397.
- Global Tuberculosis Control. WHO REPORT 2004.
- Gutierrez M C et al. Molecular fingerprinting of M. tuberculosis and risk factor for tuberculosis transmission in Paris, France. J Clin Microbiol. 1998;36(2):486-492.
- Burgos M V, Pym A S. Molecular epidemiology of tuberculosis. Eur Respir J 2002;20:54-65.
- Roland D, Sabine R G, Stefan N. Molecular Epidemiology of Tuberculosis among Immigrants in Hamburg, Germany. J Clin. Microbiol. July 2004; 42 (7): 2952-2960.
- Burgos MV, Pym AS. Molecular epidemiology of tuberculosis. Eur Respir J Suppl. 2002;36:54s-65s.
- Montoro E et al. Molecular fingerprinting of M. tuberculosis isolated obtained by IS6110 RFLP analysis. 1998; 36 (10): 3099-3102.
- Kulaga S, Behar M A, Schwartzman K. Genetic fingerprinting in the study of tuberculosis transmission. 1999;36(2):1163-1169.
- Soolingen D, Hass P, Hermans P et al. Manual for fingerprinting of Mycobacterium tuberculosis strains. J Clin Microbiol. 1995;31(2):406-409.
- Vogelstein B, Gillespie D. Agarose gel DNA extraction DNA. 1999;76(2) 615-619.
- According ECL Direct Nucleic Acid Labelling And Detection Systems. Amersham Biosciences. RPN3000PL/AC.
- Torrea G, Levee G, Grimont P, Martin C, Chanteau S, Gicquel B. Chromosomal DNA fingerprinting analysis using the insertion sequence IS6110 and the repetitive element DR as strain-specific markers for epidemiological study of tuberculosis in French Polynesia. J Clin Microbiol. 1995;33(7):1899-904.
- Doroudchi M, Kremer K, Basiri E A et al. IS6110- RFLP and Spoligotyping of Mycobacterium tuberculosis Isolates in Iran. J Infect Dis. 2000;32:663-668.
- Kadivar MR, Ghaneh-Shirazi R, Khavandegaran F, Karimi M. epidemiology of tuberculosis among Afghan immigrants Fars province southern Islamic in Republic of Iran. East Mediterr Health J 2007;13(4):758-764.
- Kruuner A, Pehme Lea, Ghebremichael S, Koivula T, Hoffner SE, Mikelsaar M: Use of Molecular technique to distinguish between treatment failure and exogenous reinfection with Mycobacterium tuberculosis. Clin Infect Dis. 2002, 35(3):146-153.
- Franzetti L, Codecasa A, Matteelli A et al. Genotyping analyses of tuberculosis transmission among immigrant residents in Italy. Clin Microbiol Infect. 2010; 16:1149-1154
- Diel R et al. Epidemiology of tuberculosis in Germany: long-Term population-Based analysis applying classical and molecular Epidemiological techniques. J Clin Microbiol. 2002;40(2):532-539.
- reactivation -Jasmer R M, Ponce A, Hopewell P C et al. Tuberculosis in Mexican-born persons in san francisco; acquired infection and transmission. Int J Tuberc Lung Dis 1997;1:539-541.
- Cohen T, Murray M, Incident Tuberculosis among Recent US Immigrants and Exogenous Reinfection. Emerg Infect Dis. 2005 May; 11(5): 725-728.
- In˜igo J, Garcı́a de Viedma D, Arce A et al. Analysis of changes in recent tuberculosis transmission patterns after a sharp increase in immigration. J Clin Microbiol 2007; 45: 63-69.