جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مجله علوم پزشکی مدرس
دوره ۱۲، شماره ۱: از ۱۱-۱۶
بهار ۱۳۸۸

بررسی نقش سن در انتقال فرد به فرد مایکوباکتریوم توبرکلوزیس در منطقه شمال غرب ایران با استفاده از روش IS6110-RFLP

محمد اصغرزاده[1*]، عباس علی‌بخشی[2]، جواد رنجبری[3]، غلامرضا حنیفی[4]، ایرج خلیلی[5]، ناصر رزم‌آرایی[5]، حسین صمدی کفیل[6]

۱- دانشیار، مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
۲- دانشجوی کارشناسی ارشد، مرکز تحقیقات سل و بیماری‌های ریوی تبریز، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
۳- دانشجوی کارشناسی ارشد، مرکز تحقیقات هماتولوژی و انکولوژی تبریز، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
۴- کارشناس ارشد، مرکز تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، شعبه شمال غرب کشور (پیام مرند)، مرند، آذربایجان شرقی، ایران
۵- دکتری دامپزشکی، مرکز تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، شعبه شمال غرب کشور (پیام مرند)، مرند، آذربایجان شرقی، ایران
۶- دانشجوی دکتری، گروه باکتری‌شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

تاریخ دریافت:۸۷/۱۱/۱۶ تاریخ پذیرش:۸۸/۰۲/۰۹

چکیده

هدف: مطالعه حاضر به بررسی نقش سن در انتقال فرد به فرد مایکوباکتریوم توبرکلوزیس در ایزوله‌های جدا شده از منطقه شمال غرب ایران (استان‌های آذربایجان شرقی و غربی) می‌پردازد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه برای بررسی ایزوله‌های منطقه شمال غرب ایران از روش RFLP روی قطعه IS6110 استفاده شد. در مجموع ۱۶۵ ایزوله مایکوباکتریوم توبرکلوزیس با این روش مطالعه شد.

نتایج: در مجموع ۳۰/۵۲ درصد از نمونه‌هایی که دارای ۵ یا بیشتر کپی IS6110 هستند در دسته‌های انتقال فرد به فرد قرار گرفتند که ۱۶ دسته را تشکیل دادند. دسته‌ها بین ۲ تا ۱۰ عضو داشتند. ۶۹/۴۸ درصد ایزوله‌ها نیز دارای الگوی RFLP منحصر به فرد بودند. جنس مذکر بیشتر از مؤنث در دسته‌های انتقال قرار گرفتند که البته از نظر آماری معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵). در مطالعه حاضر مشاهده شد که افراد با سن ۵۶ و بالاتر بیشترین گروه مشتمل بر دسته‌ها را شامل می‌شدند (۵۹/۶ درصد) که به‌صورت معنی‌داری بیشتر از افراد جوان بود (P<۰/۰۵).

نتیجه‌گیری: در مطالعه حاضر مشاهده شد که در سن بالا انتقال فرد به فرد مایکوباکتریوم توبرکلوزیس از فاکتورهای اصلی ابتلا به بیماری در مقایسه با فعال شدن مجدد بیماری پیشین است، همچنین در مطالعه حاضر بیکاری و فقر و سطح پایین فرهنگی از عوامل خطرزای دخیل در انتقال فرد به فرد باکتری بودند.

کلیدواژگان: مایکوباکتریوم توبرکلوزیس، سن، انتقال، IS6110، RFLP

۱- مقدمه

مایکوباکتریوم (*Mycobacterium*) یکی از بیماری‌زاترین باکتری‌ها است که در سراسر جهان گسترش یافته است به‌نحوی که سالانه ۸ میلیون مورد جدید و ۲-۳ میلیون مرگ و میر بر اثر این باکتری در سطح جهان گزارش می‌شود [۱، ۲]. تخمین زده می‌شود که تا سال ۲۰۲۰ این باکتری ۱ میلیارد نفر از جمعیت جهان را آلوده نماید که از این تعداد ۱۵۰ میلیون نفر دچار بیماری سل شده و ۳۶ میلیون نفر را خواهد کشت و سل به‌عنوان اصلی‌ترین عامل عفونی مرگ و میر بزرگسالان در

*نشانی مکاتبه: تبریز، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، صندوق پستی: ۱۴۷۶۶-۵۱۶۶۶
Email: asgharzadehmo@yahoo.com

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

کشورهای در حال توسعه خواهد بود. [۳]. در حال حاضر نیز سل به‌عنوان یکی از اصلی‌ترین مشکلات بهداشتی جهان شناخته می‌شود و بالغ بر ۹۵ درصد گزارش‌ها مربوط به کشورهای توسعه نیافته یا در حال توسعه است که دلیل آن را در ارتباط با شیوع ویروس سندرم نقص سیستم ایمنی (Acquired Immune Deficiency Syndrome: AIDS) می‌دانند. در این کشورها اغلب این افراد در میانه زندگی‌شان می‌میرند [٤، ٥] در حالی‌که در کشورهای توسعه یافته حداقل ۲۰ درصد از عفونت سل در سنین ٦٥ سال و بالاتر روی می‌دهد [٤]؛ بنابراین واضح است که این بیماری نیز همچون سایر بیماری‌ها با سن بیماران ارتباط مستقیمی دارد.

از آن‌جا که بروز بیماری سل به عواملی همچون میزان شیوع سل در منطقه، طول عفونت در بیماران و شیوع و میزان برخورد افراد با بیماران مسلول بستگی دارد [٦، ٧]؛ بنابراین براساس مطالعات مرسوم اپیدمیولوژیک ثابت شده است که بالغ بر ۹۰ درصد از بیماری‌ها در کشورهای توسعه یافته بر اثر فعال شدن مجدد بیماری در سنین بالا است و انتقال اخیر بخش کمی از عفونت‌ها را تشکیل می‌دهد [۸].

مطالعات اخیر بر نقش سن در انتقال مایکوباکتریوم توبرکلوزیس (*Mycobacterium tuberculosis*) تأکید داشته‌اند [۹، ۱۰] که می‌تواند انعکاسی از تغییرات در عوامل خطرزای بیماری در طول عمر فرد باشد [۱۰]. مطالعات نشان داده است افرادی که در دسته‌ها (Clusters) قرار نمی‌گیرند نشان‌دهنده کسب عفونت در گذشته دور و فعال شدن مجدد عفونت است؛ این افراد دارای الگوی اختصاصی انگشت‌نگاری DNA (DNA fingerprinting) هستند [۱۱]. بنابراین شناسایی موارد وابسته به سن انتقال سل نقش مهمی در کنترل و کاهش انتقال مایکوباکتریوم توبرکلوزیس مقاوم به درمان و درمان بیماران تا زمان ریشه‌کنی عفونت در فرد دارد [۱۱]. برای شناسایی سل وابسته به سن از روش چندشکلی طول قطعات محدودالاثر (Restriction Fragment Length Polymorphism: RFLP) برای شناسایی تعداد قطعات IS6110 موجود در ژنوم استفاده می‌شود [۱۲، ۱۳]، این مطلب ثابت شده است که استفاده از انگشت‌نگاری DNA ابزاری دقیق در مطالعه اپیدمیولوژی مایکوباکتریوم توبرکلوزیس است [١٤].

با توجه به اهمیت سن در انتقال مایکوباکتریوم توبرکلوزیس در مطالعه حاضر نقش سن بیماران در انتقال مستقیم و فرد به فرد این باکتری در منطقه شمال غرب ایران (استان‌های آذربایجان شرقی و غربی) بررسی شد.

۲- مواد و روش‌ها

تمامی ایزوله‌های مایکوباکتریوم توبرکلوزیس مورد مطالعه بین فروردین سال ۱۳۸۳ تا فروردین سال ۱۳۸٤ به مراکز تحقیقات سل و بیماری‌های ریوی استان‌های آذربایجان شرقی و آذربایجان غربی مراجعه کرده بودند، جمع‌آوری شد. در نهایت الگوی RFLP مایکوباکتریوم در ١٦٥ بیمار مشخص شد. شناسایی مایکوباکتریوم توبرکلوزیس با استفاده از آزمون‌های استاندارد بیوشیمیایی شامل قابلیت تولید نیاسین (Niacin)، فعالیت کاتالاز، مصرف نیترات، تولید رنگدانه (Pigment) و میزان رشد صورت گرفت.

برای استخراج DNA باکتری‌های جدا شده از روش استاندارد که توسط دکتر ون‌سولنجن (van Soolingen) توصیف شده است، استفاده شد [۱۵]. برای تهیه پروب (Probe) IS6110 به اندازه ٢٤٥ جفت‌باز از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (Polymerase Chain Reaction: PCR) استفاده شد. برای این کار از دو الیگونوکلئوتیدهای INS1 (5'-CGT GAG GGC ATC GAG GTG GC-3') و INS-2 (5'-GCG TAG GCG TCG GTG ACA AA-3') (Tib-Molbiol, Germany) استفاده شد. برای سنتز پروب از DNA خالص شده مایکوباکتریوم بویس (*M. bovis*) (باسیل BCG) به‌وسیله PCR استفاده شد [۱۲]. پروب تولید شده خالص‌سازی شد و با مواد غیررادیواکتیو دیگوکسی‌ژنین (Digoxigenin) نشان‌دار شد.

انگشت‌نگاری DNA آن‌گونه که توسط ون‌انبدن (van Embden) و همکاران توصیف شده بود، صورت گرفت

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

[۱۲، ۱۵]. DNA استخراج شده مایکوباکتریوم توسط آنزیم PvuII بریده شدند (Fermentas, Lithuania) و قطعات حاصل توسط الکتروفورز در ژل آگارز ۰/۸ درصد در ۲۰ ولت به‌مدت ۱۸- ۲۰ ساعت جداسازی شدند و سپس قطعات حاصل از ژل به غشای نایلونی دارای شارژ مثبت منتقل شد.

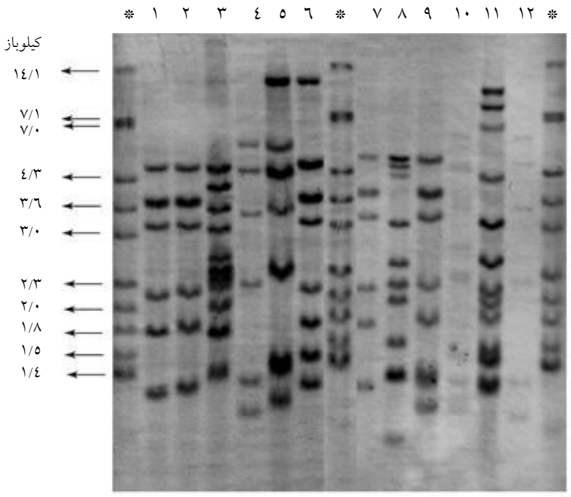
دورگه‌سازی (Hybridization) با پروب IS6110 نشان‌دار شده در کیسه دورگه‌سازی انجام گرفت و به روش سیستم کلریمتریک (Colorimetric system) شناسایی شد. مخلوطی از DNA لدر سوپرکویل (Supercoiled DNA ladder) بریده شده توسط PvuII (Sigma, USA) و DNA بریده شده توسط HaeIII از φX174 (Fermentas, Lithuania) به‌عنوان نشانگر (Marker) داخلی استفاده شد. نشانگر داخلی به تمام چاهک‌ها به همراه DNA مایکوباکتریوم توبرکلوزیس افزوده شد و به‌وسیله پروب‌های طراحی شده DNAها نشان‌دار شده و توسط کیت شناساگر شناسایی شدند (Roche, Germany). علاوه بر اندازه نشانگر داخلی، از DNA سویه مرجع Mt14323 هضم شده توسط PvuII به‌عنوان اندازه نشانگر خارجی در هر ساترن بلاتینگ (Southern blotting) استفاده شد. الگوی RFLP ایزوله‌ها به‌صورت دیداری مقایسه شدند. دسته به‌عنوان گروهی از دو ایزوله یا بیشتر است که از بیماران متفاوت جداسازی شده‌اند و دارای الگوی RFLP یکسان هستند و تعداد و قطعات با وزن مولکولی مشابه به‌وجود آورده‌اند.

برای مطالعه آماری تمام نمونه‌ها به دو دسته مشتمل در دسته‌ها و غیر مشتمل در دسته‌ها تقسیم‌بندی شدند و نتایج گروه‌های مختلف آماری توسط آزمون Chi- square (یا Fisher exact test) مقایسه شدند. P-value زیر ۰/۰۵ از لحاظ آماری معنی‌دار محسوب می‌شود.

۳- نتایج

طی مدت فروردین ۱۳۸۳ تا فروردین ۱۳۸٤ در مجموع ۱٦٥ نمونه کشت مثبت مایکوباکتریوم توبرکلوزیس جداسازی و برای آزمون IS6110-RFLP استفاده شد. از این تعداد ۸۹ (۵۳/۹٤ درصد) از نمونه‌ها مرد و ۷٦ (٤٦/۰٦ درصد) از نمونه‌ها زن بودند. سن بیماران بین ۲/۵ تا ۸۸ سال بود.

انگشت‌نگاری به‌وسیله RFLP باندهایی به تعداد صفر تا ۱۷ را نشان می‌دادند (شکل ۱). میانگین تعداد کپی‌های IS6110 در هر ایزوله ۷/۳ بود. اغلب ایزوله‌ها (۹۳/۳ درصد) حداقل دارای ۵ کپی از IS6110 در ژنوم خود بودند و فقط ۱۱ نمونه (٦/۷ درصد) دارای کمتر از ۵ کپی از IS6110 بودند که در این میان ۱ ایزوله دارای ٤ کپی، ۱ ایزوله دارای ۲ کپی و یک ایزوله فقط دارای یک کپی از IS6110 بود و ۸ ایزوله هیچ کپی از IS6110 را نداشت (شکل ۱).



شکل ۱ الگوهای مختلف انگشت‌نگاری ایزوله‌های به‌دست آمده از بیماران، در این شکل نمونه‌های شماره ۱ و ۲ دارای الگوی مشابه هستند. سویه استاندارد (*) مورد استفاده سویه مایکوباکتریوم توبرکلوزیس Mt14323 است که به‌عنوان نشانگر استفاده شدند.

آنالیز نهایی روی ۱٥٤ ایزوله که دارای ۵ یا بیشتر کپی IS6110 داشتند، صورت گرفت و ۳۰/۵۲ درصد از مجموع ایزوله‌ها در دسته‌ها قرار گرفتند که ۱٦ دسته را تشکیل دادند که در هر دسته بین ۲ تا ۱۰ نمونه قرار می‌گرفت. ٦۹/٤۸ درصد از نمونه‌های مورد مطالعه دارای الگوی انحصاری بودند. در مطالعه حاضر مردان (۵۱/۵ درصد) نسبت به زنان (٤۸/٤ درصد) بیشتر در دسته قرار گرفتند که ازنظر آماری معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵).

در مطالعه حاضر ۲۸ بیمار سن ۳۰ سال و کمتر داشتند، ۱۵ بیمار بین ۳۱-۴۰، ۴۲ بیمار بین ۴۱-۵۵ و ۶۹ بیمار ۵۶ سال یا بیشتر داشتند. بیماران با گروه سنی بالای ۵۶ سال بالاترین همراهی را با دسته‌ها داشتند (۵۹/۶ درصد)، این گروه از بیماران به‌طور معنی‌داری بیشتر از جوانان در دسته‌ها قرار گرفتند (P<۰/۰۵). همان‌طور که در جدول ۱ نشان داده شده است ایزوله‌های قرار گرفته در دسته با سن ۳۰ و کمتر فقط ۶/۴ درصد از مجموع ایزوله‌ها را شامل می‌شوند و ایزوله‌های با گروه سنی ۳۱-۴۰ و ۴۱-۵۵ به ترتیب ۱۰/۶ درصد و ۲۳/۴ درصد از مجموع نمونه‌ها را شامل می‌شدند.

جدول ۱ ارتباط بین سن و قرار گرفتن ایزوله‌های جدا شده مایکوباکتریوم توبرکلوزیس در شمال غرب ایران

*	**	***	****	*****	P-value
۳۰≥	۳ (۶/۴)	۲۵ (۲۳/۴)	۸۹/۳	۲۸ (۱۸/۲)	-
۳۱- ۴۰	۵ (۱۰/۶)	۱۰ (۹/۳)	۶۶/۷	۱۵ (۹/۷)	-
۴۱- ۵۵	۱۱ (۲۳/۴)	۳۱ (۲۹/۰)	۷۳/۸	۴۲ (۲۷/۳)	-
۵۶≤	۲۸ (۵۹/۶)	۴۱ (۳۸/۳)	۵۹/۴	۶۹ (۴۴/۸)	۰/۰۳۱

* گروه سنی (سال)
** تعداد بیماران دسته‌بندی شده (درصد)
*** تعداد بیماران دسته‌بندی نشده (درصد)
**** درصد مجموع بیماران دسته‌بندی نشده در گروه
***** مجموع بیماران (درصد)

بیماران گروه سنی ۳۰ سال و پایین‌تر به‌صورت مشخص و معنی‌داری در دسته‌ها قرار نمی‌گرفتند (جدول ۱) به‌نحوی که از مجموع ۲۸ عضو این گروه سنی ۲۵ بیمار در هیچ دسته‌ای قرار نگرفتند (۸۹/۳ درصد) و در گروه‌های سنی ۳۱-۴۰ و ۴۱-۵۵ و ۵۶ به بالا به ترتیب ۶۶/۷ درصد و ۷۳/۸ درصد و ۵۹/۶ درصد در دسته‌ای قرار نگرفتند.

۴- بحث

امروزه مشخص شده است که باسیل مایکوباکتریوم توبرکلوزیس قادر است عفونت خود را بلافاصله پس از ابتلای شخص گسترش دهد یا سال‌ها پس از ابتلا علایم بیماری را بروز دهد که می‌تواند به‌واسطه فعالیت مجدد عفونت قبلی یا ابتلای مجدد شخص بروز کند. یکی از عوامل دخیل در این ارتباط را سن می‌دانند و در واقع خطر ابتلا افراد در دوره‌های سنی متفاوت متغیر است [۱۰]. در مطالعه حاضر از مجموع ۶۹ بیمار با سن بالای ۵۶ سال، ۲۸ بیمار در دسته قرار گرفتند (۵۹/۶ درصد از بیماران داخل دسته)؛ این یافته عکس نتایج مطالعات قبلی بود که بیماران جوان بیشتر در دسته‌ها قرار می‌گرفتند [۱۶- ۱۸]. این یافته نشان می‌دهد در منطقه شمال غرب ایران انتقال بیماری سل جدید غالباً در افراد با سن بالا روی می‌دهد. در حالی‌که در مطالعات صورت گرفته در کشورهای صنعتی برعکس مطالعه حاضر میزان قرار گرفتن افراد مسن در دسته‌ها کمتر از افراد جوان بوده است. در حقیقت در مطالعه حاضر کاهش انتقال مایکوباکتریوم توبرکلوزیس با کاهش میانگین سنی بیماران رابطه مستقیم داشته است. این تفاوت در ارتباط بین گروه سنی و میزان انتقال مستقیم مایکوباکتریوم توبرکلوزیس بین مطالعه حاضر و سایر نقاط شاید به دلیل تفاوت در عوامل خطرزای ابتلای سل در طول دوره‌های زمانی مختلف حاکم در قرن بیستم و سال‌های اخیر است [۱۹، ۲۰]. در نتیجه در کشورهای پیشرفته در واقع بروز سل در افراد مسن در پی فعالیت مجدد بیماری است که فرد سال‌ها پیش کسب نموده است و به دلیل نیمه‌عمر پایین تغییر الگوی انگشت‌نگاری DNA فقط تعداد کمی از افراد مسن دارای الگوی مشابه هستند [۱۹].

در مطالعه حاضر افراد مسن‌تر (۵۶≤ سال) غالباً در دسته‌های انتقال عفونت قرار گرفتند در حالی‌که در مطالعات مشابه در سایر نقاط جهان این میزان بین ۳۰ تا ۴۰ درصد مشاهده شده است و با افزایش سن قرارگیری در دسته‌ها کم شده است [۱۰، ۱۶، ۱۷، ۲۰، ۲۱]. از جمله فرضیات مؤثر بر این تفاوت می‌توان به بیکاری، سطح زندگی پایین، شیوع پایین ویروس AIDS یا حتی موفقیت در کنترل عفونت سل در افراد با سنین پایین‌تر اشاره کرد. در مجموع میزان پایین دسته‌های انتقال سل در این منطقه نشان می‌دهد که عفونت حاضر در

منطقه غالباً به‌واسطه فعالیت مجدد بیماری پیشین بوده و برنامه‌های کنترل و پیشگیری از مایکوباکتریوم توبرکلوزیس در شمال غرب کشور موفق بوده است. همان‌طور که در نتایج نیز اشاره شد با کاهش سن بیماران میزان قرارگیری بیماران در دسته‌ها و در نتیجه انتقال عفونت کاهش یافته است. برای مثال از ٤٢ بیمار بین سنین ٤١- ٥٥، ١١ بیمار در دسته‌ها قرار گرفتند (٢٣/٤ درصد از بیماران داخل دسته)، نتایج مطالعه حاضر می‌تواند شاهدی بر این ادعا باشد که در کشور ما انتقال عفونت جدید و فرد به فرد بیشتر در سنین بالاتر صورت می‌گیرد.

از مطالعه حاضر این‌گونه می‌توان نتیجه‌گیری کرد که افراد مسن دارای سطح معیشتی پایین‌تر بیشتر در معرض ابتلا و انتقال مایکوباکتریوم توبرکلوزیس قرار می‌گیرند. برنامه‌های کنترل انتقال بیماری سل در منطقه شمال غرب ایران موفقیت‌آمیز است و انتقال عفونت به‌ویژه در سنین پایین کم است.

٥- تشکر و قدردانی

این مطالعه با حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی تبریز صورت گرفته است و در این‌جا برخود لازم می‌دانیم از تلاش و همکاری تمامی کارمندان مرکز تحقیقات سل و بیماری‌های ریوی تبریز و مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی قدردانی نماییم.

٦- منابع

[1] de Boer AS, Blommerde B, de Haas PE, Sebek MM, Lambregts-van Weezenbeek KS, Dessens M, van Soolingen D. False-positive Mycobacterium tuberculosis cultures in 44 laboratories in the Netherlands (1993 to 2000): Incidence, risk factors and consequences. J Clin Microbiol 2002; 40(11): 4004-9.

[2] Singh S, Gopinath K, Shahdad S, Kaur M, Singh B, Sharma P. Nontuberculosis myco-bacterial infections in Indian AIDS patients detected by a novel set of ESAT-6 polymerase chain reaction primers. Jpn J Infect Dis 2007; 60(1): 14-8.

[3] Cantalice Filho JP, Sant Anna CC, Bóia MN. Analysis of the treatment of pulmonary tuberculosis in elderly patients from a university hospital in Rio de Janeiro, Brazil. J Bras Pneumol 2007; 33(6): 691-8.

[4] Vesosky B, Turner J. The influence of age on immunity to infection with Mycobacterium tuberculosis. Immunol Rev 2005; 205: 229–43.

[5] Kochi A. The global tuberculosis situation and the new control strategy of the World Health Organization. Tubercle 1991; 72(1): 1–6.

[6] Rieder HL. Opportunity for exposure and risk of infection: the fuel for the tuberculosis pandemic. Infection 1995; 23(1): 1–3.

[7] Borgdorff MW, Nagelkerke NJ, van Soolingen D, Broekmans JF. Transmission of tuberculosis between people of different ages in The Netherlands: an analysis using DNA fingerprinting. Int J Tuberc Lung Dis 1999; 3(3): 202–6.

[8] Gutiérrez MC, Vincent V, Aubert D, Bizet J, Gaillot O, Lebrun L, Le Pendeven C, Le Pennec MP, Mathieu D, Offredo C, Pangon B, Pierre-Audigier C. Molecular fingerprinting of Mycobacterium tuberculosis and risk factors for tuberculosis transmission in Paris, France and surrounding area. J Clin Microbiol 1998; 36(2): 486-92.

[9] Borgdorff MW, Nagelkerke NJ, de Haas PE, Van Soolingen D. Transmission of Myco-

[16] Alland D, kallut GE, Moss AR, McAdam RA, Hahn JA, Bosworth W, Drucker E, Bloom BR. Transmission of tuberculosis in New York City. An analysis by DNA fingerprinting and conventional epidemiologic methods. N Engl J Med 1994; 330(24): 1710-6.

[17] Small PM, Hopewell PC, Singh SP, Paz A, Parsonnet J, Ruston DC, Schecter GF, Daley CL, Schoolnik GK. The epidemiology of tuberculosis in San Francisco. A population-based study using conventional and molecular methods. N Engl J Med 1994; 330(24): 1703-9.

[18] Diaz R, Gomez R, Restrepo E, Rumbaut R, Sevy-Court J, Valdivia JA, van Soolingen D. Transmission of tuberculosis in Havana, Cuba: a molecular epidemiological study by IS6110 restriction fragment length polymorphism typing. Mem Inst Oswaldo Cruz 2001; 96(4): 437-43.

[19] Vynnycky E, Borgdorff MW, Van Soolingen D, Fine PE. Annual Mycobacterium tuberculosis infection risk and interpretation of clustering statistics. Emerg Infect Dis 2003; 9(2): 176-83.

[20] van Soolingen D, Borgdorff MW, de Haas PE, Sebek MM, Veen J, Dessens M, Kremer K, van Embden JD. Molecular epidemiology of tuberculosis in the Netherlands: a nationwide study from 1993 through 1997. J Infect Dis 1999; 180(3): 726-36.

[21] Bauer J, Yang Z, Poulsen S, Andersen AB. Results from 5 years of nationwide DNA fingerprinting of Mycobacterium tuberculosis complex isolates in a country with a low incidence of M. tuberculosis infection. J Clin Microbiol 1998; 36(1): 305-8.

bacterium tuberculosis depending on the age and sex of source cases. Am J Epidemiol 2001; 154(10): 934-43.

[10] Vynnycky E, Fine PE. The natural history of tuberculosis: the implications of age-dependent risks of disease and the role of reinfection. Epidemiol Infect 1997; 119(2): 183-201.

[11] Moro ML, Salamina G, Gori A, Penati V, Sacchetti R, Mezzetti F, Infuso A, Sodano L. Two-year population-based molecular epidemiological study of tuberculosis transmission in the metropolitan area of Milan, Italy. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2002; 21(2): 114-22.

[12] van Embden JD, Cave MD, Crawford JT, Dale JW, Eisenach KD, Gicquel B, Hermans P, Martin C, McAdam R, Shinnick TM, Small PM. Strain identification of Mycobacterium tuberculosis by DNA fingerprinting: recommendations for a standardized methodology. J Clin Microbiol 1993; 31(2): 406-9.

[13] Seidler A, Nienhaus A, Diel R. The transmission of tuberculosis in the light of new molecular biological approaches. Occup Environ Med 2004; 61(2): 96-102.

[14] Asgharzadeh M, Shahbabian K, Samadi Kafil H, Rafi A. Use of DNA fingerprinting in identifying the source case of tuberculosis in East Azarbaijan provinces of Iran. J Med Sci 2007; 7(3): 418-21.

[15] van Soolingen D, de Haas PE, Hermans PW, van Embden JD. DNA fingerprinting of Mycobacterium tuberculosis. Methods Enzymol 1994; 235: 196-205.