JOURNAL OF VETERINARY CLINICAL RESEARCH

سال دوم، شماره اول، زمستان ۱۳۸۹

صفحات ۱۳-۵

شناسایی سریع گونه های مختلف مایکوباکتریوم ها در بیماری سل

اسماعیل جبارزاده[1*]، مهناز سیفی[1]

۱- عضو هیئت علمی بخش سل و تحقیقات ریوی، انستیتو پاستور ایران

** نویسنده مسئول:* e.jabbarzadeh@yahoo.com

چکیده

بیماری سل میان انسان و دام مشترک است. در توصیف بیماری سل همین بس که ۲۰ میلیون نفر مبتلا به آن در جهان وجود دارد و هر ساله ۵ میلیون نفر به این رقم افزوده می‌گردد. مردم مناطق محروم جهان بیشترین قربانیان سل به شمار می‌روند. بیماری سل در گاو با ایجاد توبرکلهای پیشرونده در اندامهای مختلف بدن مشخص می گردد. علاوه بر گاو، انسان، بز و خوک نیز نسبت به آلودگی با عامل مسبب سل گاوی حساس بوده و گوسفند و اسب نوعی مقاومت طبیعی را نشان می دهند. سه گونه باسیل سل بعنوان عامل بیماری در حیوانات خونگرم شناخته شده اند که گونه سل انسانی (مایکوباکتریوم توبرکولوزیس) و گاوی (مایکوباکتریوم بویس) خیلی به یکدیگر شبیه هستند ولی گونه مرغی از جهات مختلف با دو گونه انسانی و گاوی تفاوت دارد و بخوبی قابل تمایز است. شناسایی گونه های مختلف مایکو باکتریوم با روشهای بیوشیمیایی و فنوتیپی وقت گیر و دشوار می باشد، ضمن اینکه استفاده از این روشها مشکلات تشخیصی را برای شناسایی تعدادی از این گونه ها ایجاد نموده است. امروزه روشهای سریع تشخیص مولکولی نوع سویه مایکوباکتریوم آلوده کننده جوامع انسانی از جایگاه مهمی در اپیدمیولوژی و کنترل بیماری سل برخوردار می باشد، لذا در این راستا شناسایی نوع سویه منتشره در هر منطقه میتواند دید خوبی از لحاظ اپیدمیولوژی مولکولی این بیماری برای هر جامعه ایجاد نماید.این مورد در شناسایی کلیه موارد آلوده کننده مایکوباکتری (آتیپیکال و توبرکلوزیس) اهمیت دارد.اخیرا تکنیکهای مانند هضم آنزیمی یا Restriction fragment length polymorphism (RFLP) و استفاده از پروبهای اختصاصی در تشخیص مایکوباکتریومها کارایی زیادی پیدا کرده اند. با استفاده از این روشها به راحتی میتوان نمونه های مشکوک به سل انسانی ویا حیوانی را در عرض یک روز از نظر وجود مایکوباکتری و همچنین تعیین گونه آن دقیقا مورد بررسی وتایید قرارداد. بدیهی است تشخیص سریع عفونتهای مایکوباکتریایی میتواند کمک شایانی به کاهش شیوع این بیماری در کشور بنماید.

واژه‌های کلیدی: مایکوباکتریوم، شناسایی سریع، سل

JOURNAL OF VETERINARY CLINICAL RESEARCH

J.Vet.Clin.Res 2(1)5-13 2011

Rapid diagnosis of different mycobacterial species in Tuberculosis

Jabbarzadeh, E.[*1], Saifi, M.[1]

1. Department of Mycobacteriology, Pasteur Institute of Iran

Corresponding author: e.jabbarzadeh@yahoo.com

Transmition of tuberculosis between man and livestock is quite common. In the world tuberculosis is described to be present in 20 million people. and every year 5 million people is added to this figure. People living in poorer areas are more in danger of the tuberculosis. Tuberculosis has been diagnosed in cows with dilapidated tubercles in various organs. In addition to the cow, man, goats and pigs are sensitive to bovine tuberculosis, sheep and horses show a kind of natural resistance.

Three types of Mycobacterium tubercule bacilli have been recognized among warm blooded animals , which human tuberculosis species (Mycobacterium tuberculosis) and bovine species (Mycobacterium bovis) are very similar to each other but a kind of chicken species is different.

Identification of different mycobacterial species with biochemical and phenotypic methods is time-consuming and difficult, and using these diagnostic methods created some problems to identify some of these species. Today rapid molecular diagnostic methods for mycobacterial species which infected human communities have important position in epidemiology and control of tuberculosis. Therefore, the recognition of the strain types in every region reveals the usefull information about the disease for every society. This issue in identifying all cases infected with the mycobacterial strains (Atypical and TB) is very important.

Recently some techniques such as Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) and the use of specific probes in the diagnosis of mycobacterial strains have much efficiency. By using these methods one can easily take samples from suspicious humans or animals and in one mycobacterial infection and species identification can be performed. It is obvious that quick diagnosis of mycobacterial infections can help to reduce the disease in the country.

Key words: *Mycobacterium, Tuberculosis, Rapid Detection*

مقدمه

در گاو منشا اصلی آلودگی گاوهای آلوده می باشند. میکروب سل از طریق هوای تنفسی، خلط، مدفوع، شیر، ادرار، ترشحات رحمی و واژن و همچنین از طریق ترشحات عقده های لنفی باز شده به محیط دفع می شود. گاوهای با جراحت پیشرفته بیماری (که باسیل ها از طریق این دسته دامها به نوعی با جریان هوای تنفسی، پوست یا لومن روده در ارتباط هستند) انتشار دهنده های مشخص بیماری هستند. گاوهائی که در مرحله اول بیماری هستند ممکن است قبل از اینکه هر گونه جراحتی نشان دهند، مایکو باکتریای زنده را از طریق موکوس بینی و نای خود دفع کنند. در شرایط تجربی ۹۰ روز پس از ایجاد آلودگی، گاوها میکروب سل را به محیط دفع کرده اند. نوشیدن شیر آلوده بوسیله دامهای جوان یکی از روشهای معمول انتشار بیماری سل است. در دامداریهایی که دامها بطور متراکم نگهداری می شوند احتمال انتقال آلو دگی بیشتر می باشد. در گاوهای گوشتی شدت آلودگی کمتر است که علت آن وضعیت نگهداری آنها می باشد (۷).

گوسفندان بعنوان دامی مقاوم در نظر گرفته می شود اما تحقیقات انجام شده در نیوزیلند نشان داده است که بیماری سل میتواند در گوسفندان نیز شیوع داشته باشد بطوریکه تا ۵ درصد گله ها را آلوده نماید. در اسب بیماری سل بندرت حادث شده که علت آن می تواند به این دلیل باشد که اسبها کمتر در معرض آلودگی به باکتری سل هستند. البته نقش مقاومت طبیعی نیز بعنوان علتی دیگر ذکر شده است. همچنین بیماری سل ممکن است در گوزن، آهو، گاومیش، شتر، میمون و سایر حیوانات یک منطقه و همچنین پرندگان حادث شود (۷).

بیماری سل در تمامی کشورهای دنیا حادث شده و در گاوهای نژاد شیری حائز اهمیت فراوان است. صرف نظر از مرگ و میر ناشی از بیماری سل، در حیوانات آلوده به مایکو باکتریوم بوویس ۲۵-۱۰ درصد از میزان تولید شیر کاهش می یابد. بیماری سل گاوی از نقطه نظر بهداشت عمومی در جوامع انسانی نیز حائز اهمیت است. راحتی و فراوانی انتشار عامل مسبب بیماری سل از حیوانات به انسان، خصوصاً در محیطهایی که بیماری سل گاوی تحت کنترل نمی باشد، میتواند این بیماری را به یک بیماری مشترک مهم تبدیل نماید. آلودگی به عامل سل در انسانها بواسطه نوشیدن شیر آلوده و یا از طریق انتقال تنفسی ایجاد می شود. با پاستوریزاسیون، خطر انتقال آلودگی از طریق شیر میتواند تقریباً بطور کامل از بین برود (۱و۵).

عامل ایجاد کننده سل گاوی مایکو باکتریوم بوویس (راسته اکتینو میستال، خانواده مایکو باکتریاسه و جنس مایکوباکتریا) است. باکتری فوق در برابر حرارت، خشکی و اغلب ضد عفونی کننده ها مقاوم می باشد. مایکو باکتریوم بوویس بطور کلی ساختمان یک باکتری را داراست. اما این باکتری مانند همه مایکو باکتریومها دیواره سلولی بسیار ضخیمی دارد. عموماً یک مایکوباکتریوم در لایه سطحی خود از یک کپسول منتشر، یک دیواره دو لایه ای و غشاء پلاسمائی تشکیل شده که احتمالاً بقاء میکروب را در محیطهای نامساعد (چه در محیط و چه در داخل سلول میزبان)حفظ میکند. دیواره سلولی مایکو باکتریومها از نظر ساختمان شیمیائی ترکیبی از پپتیدو گلیکان، آرابینو گالاکتان و اسید مایکولیک و همچنین لیپیدهائی همانند مایکوزیدها، Cord Factor و سولفالیپیدها بوده که این اجزاء دیواره سلولی در پاتوژنز باسیلهای سلی نقش دارند(۴ و۷).

باید دانست مثلاً گونه سل گاوی ممکن است از انسان یا گربه جدا شود و یا گونه انسانی موجب سل در سگ و خوک می گردد و یا گونه مرغی ایجاد اختلالات آنتی ژنتیکی در گاو و گوسفند نماید. دو گونه میکروب سل در ماهیان پرورشی و استخوانی شناسایی شده که از نظر بهداشت عمومی و ایجاد حساسیت در نزد آکواریومداران و کارکنان پرورش ماهی مورد توجه است. پرندگان در شرایط

طبیعی به این بیماری دچار می شوند، معمولاً مرغهای تخمگذار بالای یکسال بیشتر دچار می شوند. برای پرندگان گونه انسانی بیماریزا نمی باشد اما گزارشهایی از سل طوطی توسط باسیل انسانی در اثر زندگی با انسانهای مسلول موجود است. تمام پرندگان نسبت به گونه مرغی باسیل سل حساس می باشند، بیماری سل بیشتر در پرندگان اهلی و پرندگان باغ وحش دیده می شود. جوندگان و خزندگان و ماهیان نیز به این بیماری دچار می شوند.

در انسان بویژه در کودکان گونه سل گاوی باعث سل پیشرونده شده که بیشتر عقده های لنفاوی و یا اندامهای گوارشی و استخوانها را فرا می گیرد. بیماریزایی گونه انسانی در گاو فقط جراحات مختصری در عقده های لنفاوی بوجود می آورد که اهمیت زیادی ندارد ولی واکنش توبرکولین را مثبت می نماید(۷)

راههای ورود میکروب به بدن:

دستگاه تنفس: در انسان و گاو عادی ترین راه دخول میکروب دستگاه تنفس می باشد. عامل بیماری در اثر سرفه و همراه با قطرات خلط بخارج پرتاب می شود و هوای مجاور خود را آلوده و بدین ترتیب تنفس آنرا برای اطرافیان خطرناک می سازد. در دامهای شیرخوار ممکن است میکروب سل همراه با شیر وارد بدن حیوان گردد و حیوانات را مبتلا سازد. خورانیدن اندامهای سلی و یا شیر آلوده به مایکوباکتریوم به دامهایی نظیر خوک، سگ و گربه منجر به بروز بیماری در آنها خواهدگردید. بعضی از اوقات دامهایی که بشکل ریوی به بیماری سل مبتلا می باشند در اثر بلع خلط آلوده بطور ثانوی دچار سل دستگاه گوارش خواهند گردید.

گوارشی: ورود میکروب به بدن پرندگان همواره از راه دستگاه گوارش صورت میگیرد. پرندگان با خوردن دانه ها و یا مواد غذایی آلوده به این بیماری دچار می شوند. به این جهت آثار سل پرندگان بیشتر بصورت روده ای و یا میلیری در طحال دیده می شود.

خراشهای پوستی: ورود میکروب سل از راه زخمهای جلدی و ایجاد سل پوستی در انسان لوپوس خوانده میشود ولی در دامها بسیار کمیاب است.

از راه رحم: دامهایی که مبتلا به سل رحمی می باشند ممکن است جراحات سلی در جفت آنها ایجاد شود و میکروب سل از راه خون، جنین را آلوده سازد در این صورت نوزاد حیوان پس از تولد در نتیجه سل عمومی در فاصله زمانی کوتاهی تلف خواهد شد.

بیماری سل در گاو معمولاً سیر مزمن دارد و بنابراین ممکن است تا مدتی با وجود ابتلاء به سل، حیوان ظاهر سالم خود را حفظ کند و حتی بعضی از گاوها که جراحات وسیع سل عمومی دارند از نظر ظاهری اغلب عادی جلوه می کنند. علائم بیماری شامل لاغری تدریجی و دائمی، کم شدن اشتها، نوسان درجه حرارت بدن واز دست دادن چابکی است و موی حیوان جلای اولیه خود را از دست میدهد. سرفه های کوتاه و مرطوب بیانگرابتلاء ریه است. برنکوپنومونی و سرفه مزمن هیچگاه صدادار نیست و بخصوص صبحهای زود در هوای سرد بیشتر مشاهده می شود. تنگی نفس با افزایش تعداد تنفس آشکار می شود، در بعضی نواحی صداهای تنفسی شنیده نمی شود و در قسمتهای دیگر خس خس ریه همراه با رالهای تنفسی شنیده می شود.ابتلای عقده های لنفاوی نای ممکن است باعث تنگی مجاری عبور هوا و موجب دشواری تنفس گردد.عادی ترین علائم سل گوارشی شامل بزرگ شدن عقده های لنفاوی و فشار بر اندامهای مجاور و نیز بزرگ شدن عقده های لنفاوی عقب حلقی می باشد.تورم پستان سلی از نظر بهداشت انسانی و هم از نظر انتقال بیماری به گوساله ها و همچنین بواسطه دشواری تمایز آن از سایر بیماریهای پستان واجد اهمیت ویژه ای می باشد. درصورت سفت و بزرگ شدن بافت پستانی همراه با کاهش شیر و بزرگ شدن عقده های لنفاوی فوق پستانی بدون علائم بیماری دیگر می توان به بیماری سل مشکوک

شد(۷).

عناوین مورد بررسی

شناسایی سل حیوانات پس از مرگ معمولاً بسیار آسان است زیرا جراحات سلی منظره مشخصی دارند و چون کانونهای سلی ابتدا در عقده لنفاوی تشکیل می شود لذا معاینه دقیق و منظم این عقده ها مخصوصاً هنگام معاینه لاشه در کشتارگاه و در مواردی که آثار بیماری در سایر اندامها چندان زیاد نیست وسیله موثری برای شناخت سل می باشد.

درمان بیماری سل در دامها:

باید اذعان داشت که این بیماری تاکنون درمان قطعی نداشته بنابراین پیشگیری، مبارزه و کنترل دارای اهمیت فوق العاده ای می باشد.

پیشگیری و مبارزه:

تنها راه مبارزه با سل گاوی برنامه ریزی صحیح کنترل و ریشه کنی سل گاوی می باشد که شامل مبارزه و ریشه کنی بیماری عمدتاً بر اساس تست مکرر توبرکولین و خارج ساختن تمامی حیوانات آلوده از گله و کشتار آنها نتایج درخشانی را در بر خواهد داشت.

اجرای کامل مقررات بهداشتی و قرنطینه ای و ضدعفونی گاوداریها برای برنامه ریشه کنی، آموزش مداوم و لازم و کافی به گاوداران داده شود و باید ازمفهوم اقتصادی و بهداشتی بیماری و تظاهرات آن آگاه باشند و لزوم هر یک از اقدامات برنامه ریشه کنی را درک کنند و بدانند که باسیل سل از طریق شیر و فرآورده های آلوده آن که از گاوهای بیمار تولید می شود و دفع می گردد، اگر غیر پاستوریزه مصرف شودیکی از منابع آلودگی محسوب می گردد.

عوامل زمینه‌ساز شیوع و پیشرفت بیماری سل گاوی:

۱) فقر بهداشتی: عدم رعایت بهداشت، آگاه نبودن دامداران از اهمیت شیوع این بیماری و خطرات آن و امکان انتقال مستقیم یا غیرمستقیم آن به انسان. ۲) فقر تغذیه‌ای: فقدان پروتئینی که مهمترین فاکتور غذایی است بیشتر حائز اهمیت است. ۳) فقر فرهنگی: عدم آگاهی و شناخت مردم از بیماری و راه انتقال، عدم پیگیری و مداومت در درمان.

عوامل عدم موفقت کامل در کنترل وریشه کنی بیماری سل گاوی:

با وجود تلاش‌های چند ده ساله دست اندر کاران مبارزه با سل، عوامل زیر در عدم موفقیت، کنترل و ریشه‌کنی کامل بیماری موثرند:

۱) عدم آشنایی با مشکل سل و عدم دسترسی به اطلاعات دقیق و همه‌گیری‌شناسی بیماری۲) عدم امکانات لازم در تشخیص قطعی بیماری (در شهرهای کوچک و روستاها) ۳) ضعف نیروی انسانی شبکه های بهداشتی از لحاظ کمی و کیفی۴) تاثیر عوامل اقتصادی و اجتماعی در انتشار بیماری ۵) عدم همکاری بعضی از دامداران لازم به ذکر است که برای اجتناب از بیماری سل و کاهش عوارض آن نه تنها پیشگیری و کنترل بیماری سل در گاو بلکه همزمان با آن بالا بردن سطح بهداشت عمومی و اعتلای شرایط زندگی اجتماعی نیز نقش غیرقابل انکاری دارد. برای محدود کردن بیماری و کنترل و ریشه‌کنی آن چند دستورالعمل وجود دارد:

۱) آشنا کردن مردم به اینکه بیماری سل، بیماری عفونی و یک مرض اجتماعی و قابل علاج است و تشخیص به موقع و معالجه بیماری به درمان آن کمک می‌کند. ۲) تشخیص گاوهای مبتلا و کشتار گاوهای مسلول و اجرای کامل مقررات بهداشتی و قرنطینه و نیز دادن به موقع خسارات وارده به دامداران و تشویق دامدارانی که در این زمینه با سازمان‌های ذیربط همکاری می‌کنند. ۳) پاستوریزاسیون شیر و لبنیات و اجتناب از خوردن شیر خام و فرآورده های لبنی ۴) بالا بردن سطح آگاهی مردم

در ارتباط با همه‌گیری شناسی بیماری بدون ایجاد رعب و وحشت یکی از مشکلات در تشخیص سل (۷) زمان بر بودن بعضی از روشهای تشخیص آزمایشگاهی است. مثلا کشت میکروبی به ۴ الی ۱۲ هفته وقت نیاز دارد. تفسیر تست پوستی به عوامل ریسک فرد برای مواجهه با عفونت، سیستم ایمنی و تاریخچه واکسیناسیون فرد بستگی دارد. افراد دارای عفونت نهانی که قبلا واکسینه نشده‌اند نسبت به افراد واکسینه شده در تست پوست به مدت زمان بیشتری نیاز دارند تا واکنش نشان دهند. بنابراین این تست باید با دقت و با توجه به محل زندگی بیمار انجام شود. تست توبرکولین پوست ممکن است جواب منفی کاذب نیز بدهد، مثلا در بیماران دچار سوء تغذیه، ضعف ایمنی یا سل پیشرفته. البته در روشهای جدید برای تشخیص با استفاده از واکنش‌های زنجیری پلیمراز به شناسایی DNA باکتری توسط آزمایش PCR ویا سنجش میزان انترفرون گاما توسط آزمایش Quantiferon که بدن در عکس العمل به باکتری‌ها ترشح می‌کند می‌پردازد. تست‌های مبتنی بر DNA باکتری علاوه بر دقت بالاتر در مدت زمان کوتاهتری نیز قادر به تشخیص باکتری سل هستند (۱و۳و۵و۱۰).

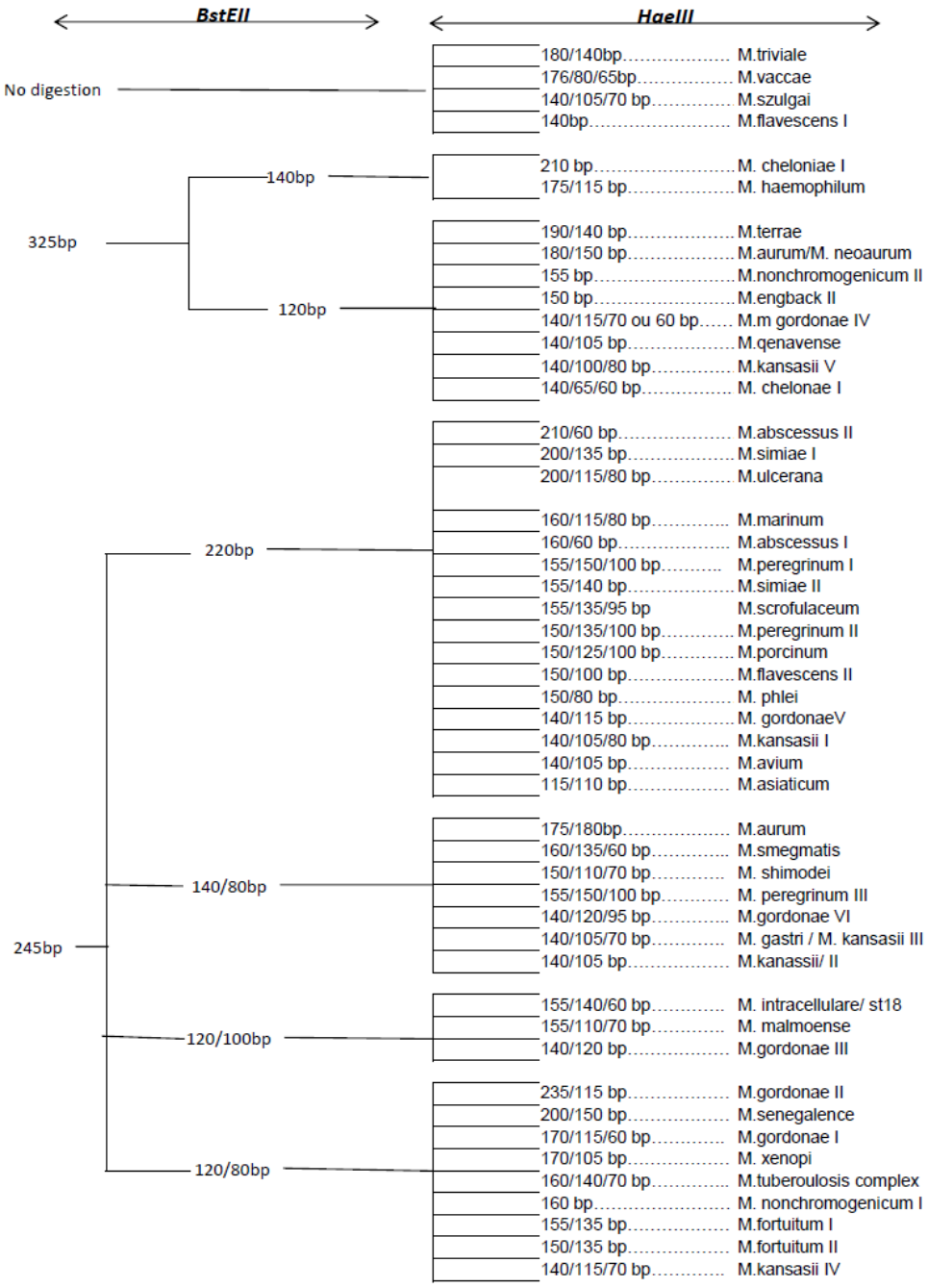
تشخیص کلاسیک مایکوباکتریومها مبتنی بر کشت و تستهای بیوشیمیایی هفته ها وقت نیاز دارد و گاها برخی تستها برای یک تشخیص دقیق از گونه باکتری دچار شکست می شوند. عدم توانایی تشخیص سریع بیماری می‌تواند بعنوان یک عامل با اهمیت در نظر گرفته شود. رشد کند مایکوباکتریوم در محیط کشت سبب می‌گردد که تا تشخیص نهایی و سریع بیماری میسر نشود و فرد یا حیوان آلوده بیماری را در جمعیت ها منتشر نماید. علاوه بر این وجود مقاومت دارویی در برخی از سویه‌های مایکوباکتریوم سبب گردیده که ارگانیسم در افراد تحت درمان ریشه کن نگردد. بکارگیری متدهای ملکولی از جمله PCR که اخیراً بصورت گسترده در بسیاری از مراکز تشخیصی استفاده می‌گردد در صورت اثبات حساسیت و ویژگی مطلوب معادل با کشت و پذیرفته شدن آن بعنوان جایگزینی مطمئن برای تشخیص، می‌تواند با ایجاد تحول در شناسایی سریع بیماران در جهت جلوگیری از انتشار بیماری نقش اساسی داشته باشد (۱و۳و۶و۸و۹).

نتایج بررسی

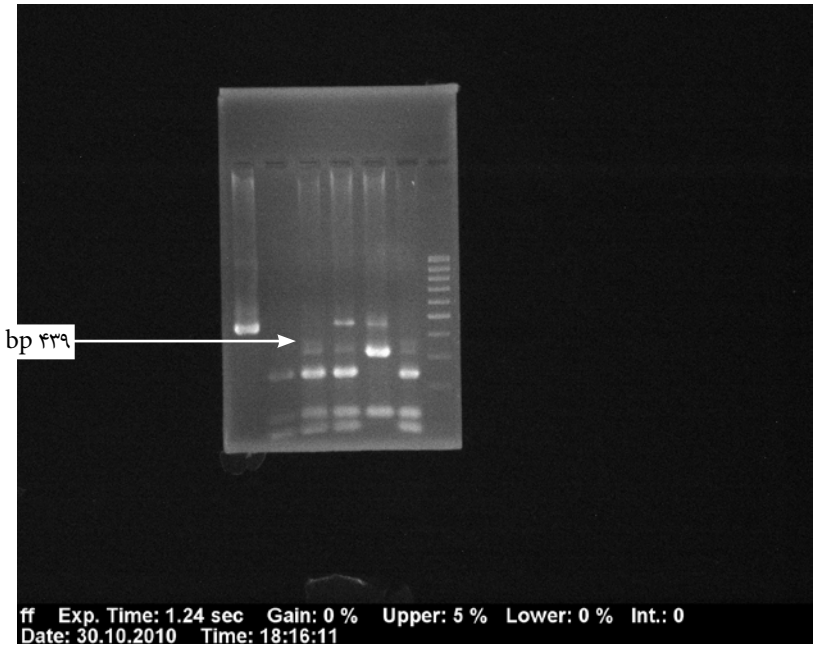
تکنیکهایی مثل TLC یا کروماتوگرافی لایه نازک وکروماتوگرافی گاز مایع یا GLC و سکانس ژنهای حفاظت شده، روشهای بسیار مفیدی برای تعیین گونه مایکوباکتریها هستند ولی انجام آنها فقط محدود به آزمایشگاه های مرجع می باشد. تکنیک PCR-RFLP جهت محصول PCR ژن (hsp65 heat shock protein 65) که بصورت حفاظت شده در تمام مایکوباکتریومها وجود دارد یک روش آسان، سریع،دقیق و ارزان برای تشخیص گونه های مایکوباکتریومها می باشد (تصویر ۲). در این روش با استفاده از دو آنزیم Eco91I و HaeIII محصول PCR به قطعات مختلفی (با توجه به گونه مایکوباکتریایی) شکسته شده والگوی الکتروفورزی خاص خود را ایجاد میکند که با توجه به تصویر ۱ میتوان گونه مایکوباکتریومها را تشخیص داد. قابل ذکراست محصول RFLP از دیگر ژنهای حفاظت شده مایکوباکتریومی مثل 16s rRNA یا dnag نیاز به استفاده از ۵-۳ آنزیم بصورت همزمان دارد که مسلما مشکل و وقت گیر ونسبتا پرهزینه می باشد (۲و۳).

اساسا در این روش DNA سویه های مورد نظر استخراج شده و از ژن حفاظت شده HSP65 (قطعه 439 bp) با استفاده از پرایمرهای اختصاصی PCR انجام میگردد در این مرحله با استفاده از آنزیمهای محدودالاثر Eco91I و HaeIII عمل هضم آنزیمی بر روی محصول PCR انجام میگیرد یعنی محصول PCR با استفاده از این دو آنزیم در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد مجاور شده وبه قطعاتی با وزن مولکولی متفاوت بر اساس گونه باکتری شکسته می شود. سپس الکتروفورز افقی محصولات هضم آنزیمی بر روی آگارز ۳ درصد در مجاورت مارکر وزن مولکولی انجام شده و پس از رنگ آمیزی با اتیدیوم بروماید کلیه نتایج با استفاده از نرم افزار Gelcompar II مورد آنالیز قرارگرفته و دندروگرام

تعیین گونه آنها رسم میگردد(۲و۶).



تصویر ۱- دندروگرام تشخیص گونه مایکوباکتریومها با استفاده از روش-PCR RFLP با استفاده از دو آنزیم Eco91I و HaeIII



تصویر ۲- نمونه ای از نتایج PCR ژن HSP65 و RFLP آن

تجزیه و تحلیل:

مقایسه چشمی قطعات ایجاد شده از هضم آنزیمی توسط دو آنزیم Eco91I و Hae III بر روی محصول PCR ژن hsp۶۵ بسیار مشکل ساز بوده و ایجاد خطا میکند. استفاده از نرم افزارهای کامپیوتری که بتواند مقایسه باندهای ایجاد شده را در زمانی کوتاه انجام دهد بسیار ضروری است. استفاده از ژل Nusive بسیار مناسب است تا بتوان باندهای ایجاد شده را با دقت بالاتری از هم تفکیک نمود و نسبت به ژل پلی آکریل آمید ایمن تر است. برای ایجاد نتایج دقیق بهتر است از سویه های استاندارد در کنار مارکرهای وزن مولکولی استفاده کرد. در نهایت با بهینه سازی کلیه شرایط فوق الذکر قادر هستیم تا تشخیص مایکوباکتریومها را تا حد گونه در مدت زمان یک روز به اتمام برسانیم که این روش ارزش بالایی درخصوص پیشگیری و درمان عفونتهای مایکوباکتریایی در علم دامپزشکی دارد.

References

1. Bahrmand A.R,Malkov I.G., Samar G., Saifi M. (1994) Differentiation of M.tuberculosis-bovis complex from atypical Mycobacteria by polymerase chain reaction. Iranian Journal of Medical. Science (19) 3- 4.

2. Bannalikar A.S., Rishendra V. (2006) Detection of Mycobacterium avium &Mycobacterium tuberculosis from human sputum cultures by PCR-RFLP analysis of hsp65 gene & pncA PCR. Indian journal of Medical Research (123) 165-172

3. Mohamed A.M., Abou El-Ella G.A., Nasr E.A.(2009) Phenotypic and Molecular typing of tuberculous and nontuberculous Mycobacterium species from slaughtered pigs in Egypt. Journal of Veterinary Diagnosis Investigation (21) 48-52

4. Rahimi M.K., Zaker bostanabad S., Adimi P. , Shekarabei M., Habibollah M., Shirmohammadi F., Bigdeli A. Faraji, B. Delalat, Z. Tayebi, M. Masoumi, E. Jabbarzadeh, Sh. Pourazar2 and L. P. TitovMu Kh. (2009) Multiple-mutations in the *katG* encoding catalase proxidase in isoniazid resistant *Mycobacterium*

tuberculosis isolates correlate with high-level of resistance in patients with active pulmonary tuberculosis in Iran. Journal of Microbiology and Antimicrobials 1(1)1-8

5. Rua-Domenech R.D., Goodchild A.T., Vordermeier H.M., Hewinson R.G., Christiansen K.H., Clifton-Hadleg R.S. (2006) A review of the tuberculin tests, γ interferon assay and other ancillary diagnostic techniques. Research in veterinary Science (81) 190-210

6. Taylor G.M., Worth D.R., Palmer S., Johans K., Hewinson R.G.(2007). Rapid detection of Mycobacterium bovis DNA in cattle lymph nodes with visible lesions using PCR. BMC Veterinary Research (3) 1-12

7. Wobeser G. (2009) Bovin tuberculosis in Canadian wildlife: An updated history.Canadian Veterinary journal (50) 1162-1176

8. Zakerbostanabad S., Rahimi M.K., Adimi P., Tayebee Z., Masoumi M., Pourazar Sh., Jabbarzadeh E., Shekarabi M., Pourmand A., Sourkova L., Titov L.(2009) Characterization of Molecular Evolution in Multi-Drug Resistant of Mycobacterium tuberculosis by rpoB Gene in Patient with Active Pulmonary Tuberculosis from Iranian Isolates. International Journal of Biomedical Science. 5 (4) 1123-28.

9.Zakerbostanabad S., Hashemi M, Rahimi M.K, Ostadzadeh F., Bossak M., Nouri S., Pourazar Sh., Ghalami M., Shekarabei M., Hoseinaei H., Jabbarzadeh E., Nojoumi A., Molla Kazemi V., Tayebei Z., Masoumi M., Slizen V., Romanovich Sagalchyk E., Titov L.(2010) Detection and frequency of mutation in the rpoB gene of Mycobacterium tuberculosis isolates from patients with active Pulmonary Tuberculosis in different regions of Tehran City. RIF journal 1(3) 160-165

10. Zakerbostanabad S., Shekarabei M., Nojoumi A., Jabbarzadeh E., Ghalami M., Molla Kazemi V., Rahimi M.K, Titov L. (2010) Study of Genetic Evolution in Mycobacterium tuberculosis isolates from Patients with Active Pulmonary Tuberculosis in the Iran and Belarus.The Open Microbiology Journal (4) 132-142

11.Analgesia to thermal stimuli in rats after brief exposure to complex 1 microtesla magnetic fields. Percept Mot Skills, 95(2) 592-8.

12. Shupak N.M., Mckay J.C., (2006) Exposure to a specific low frequency magnetic field: A double – blind placebo controlled study on pain ratings in rheumatoid arthritis and fibromyalgia, Pain Resmanag, (11) 85-90.

13. Wang Y., Niu J., etal, (2001) Analgesic effect induced by stimulation of rats brain with strong pulsed magnetic field, Sheng Wuyi xue, , 18(4) 552-3.