

مقایسه میکوباکتریوم‌های محیطی در مناطق کم‌شیوع و پرشیوع بیماری سل استان گلستان

دکتر عزت‌ا. قائمی^۱، دکتر کیومرث قاضی‌سعیدی^۲، هادی کوهساری^۳، دکتر بهناز خدابخشی^۴، فرامرز کوهسار^۵

ناصر بهنام‌پور^۶، مسعود بازوری^۷، مایا بابایی کوچکسرائی^۸، دکتر شهرام بهمنیار^۹

چکیده

تمام گونه‌های میکوباکتریوم‌ها به غیر از مایکوباکتریوم توبرکلوزیس، لپره و بوویس جزء میکوباکتریوم‌های محیطی تلقی می‌گردند که به طور معمول از خاک، آب، گرد و غبار و ... قابل جداسازی هستند. علاوه بر بیماری‌زایی نقش مهم دیگر میکوباکتریوم‌های محیطی تأثیر بر سیستم ایمنی افراد می‌باشد که ممکن است در برابر بیماری‌های میکوباکتریال نقش مفید و یا تخریبی داشته باشد. استان گلستان از نظر شیوع بیماری سل دارای دو منطقه است. در منطقه غرب استان گلستان شیوع سل نسبت به منطقه شرق استان کمتر است. هدف این مطالعه علاوه بر تعیین انواع میکوباکتریوم‌های محیطی در دو منطقه، مقایسه فراوانی و تنوع آنها با یکدیگر می‌باشد. برای این منظور از خاک این دو منطقه نمونه‌گیری صورت گرفت و پس از مراحل تیمار، روی محیط لوون اشتاین جانسون کشت داده شد. به طور کلی ۲۲۰ نمونه گرفته شد که ۱۲۰ نمونه از مناطق پرشیوع سل بود که از این تعداد ۲۵ عدد (۲۰/۸ درصد) کشت مثبت شدند و ۴۷ نوع میکوباکتریوم تشخیص داده شد. در ۱۰۰ نمونه گرفته شده از مناطق کم‌شیوع سل، ۶۶ مورد (۶۶ درصد) کشت مثبت شدند که ۱۱۴ نوع میکوباکتریوم تشخیص داده شد. در نتیجه در کل استان بدون در نظر گرفتن شیوع سل از ۲۲۰ نمونه ۹۱ عدد (۴۱/۲ درصد) کشت مثبت شدند و ۱۶۱ نوع میکوباکتریوم تشخیص داده شد که شایع‌ترین آنها عبارت بودند از میکوباکتریوم فورچوئیوم (۲۱/۸ درصد)، میکوباکتریوم فلاویسنس (۲۰/۵ درصد) و میکوباکتریوم چلونه‌ای (۱۶/۸ درصد). شیوع و تنوع میکوباکتریوم‌های محیطی در مناطق کم‌شیوع بسیار بیشتر از مناطق پرشیوع بود. هرچند، این اختلاف می‌تواند مربوط به عوامل زیست محیطی باشد، نشان‌دهنده این است که احتمال برخورد سیستم ایمنی ساکنین این مناطق با میکوباکتریوم‌های محیطی بیشتر است.

واژه‌های کلیدی: میکوباکتریوم‌های محیطی، بیماری سل، خاک، استان گلستان

- ۱- استادیار دانشگاه علوم پزشکی گرگان، نشانی: گرگان، کیلومتر ۲ جاده گرگان به ساری، ابتدای پاره شصت کلا، دانشگاه علوم پزشکی گرگان (بنیاد فلسفی)، دانشکده پزشکی، گروه میکروپزشناسی تلفن ۳ و ۴۳۴۱۶۵۱-۰۷۱
- ۲- دانشیار دانشگاه علوم پزشکی تهران
- ۳- کارشناس ارشد میکروپزشناسی
- ۴- استادیار دانشگاه علوم پزشکی گرگان
- ۵- کارشناس ارشد آنکلسناسی و عضو هیأت علمی دانشگاه علوم پزشکی گرگان
- ۶- کارشناس ارشد آمار حیاتی و عضو هیأت علمی دانشگاه علوم پزشکی گرگان
- ۷- کارشناس
- ۸- پزشک عمومی

مقدمه

بیش از پنجاه سال پیش سنت جان بروکز در باره میکوباکتریوم‌های ساپروفیت محیط گفت: «اهمیت این سازواره‌ها (ارگانیسم‌ها) فقط در این است که تحت وضعیت خاصی ممکن است آنها را با میکروب سل واقعی اشتباه کنند و یا این که در جریان کارهای تجربی روی حیوان‌های آزمایشگاهی به علت آلودگی سبب اشتباه شوند» (۱).

امروزه اهمیت این میکوباکتریوم‌ها اگر بیشتر از خود میکرب سل نباشد، کمتر از آن نیست و لازم است که به این ریزسازواره‌ها (میکروارگانیسم‌ها) توجه خاصی مبذول شود.

میکوباکتریوم‌های محیطی می‌توانند باعث ایجاد عفونت در انسان شوند که این تعداد در دو دسته بیماری‌زایی اجباری و اختیاری قرار می‌گیرند. گونه‌های بیماری‌زایی اختیاری در مواردی از جمله ضعف سیستم ایمنی باعث مشکل در بدن انسان می‌شوند که با توجه به ظهور و پیشرفت بیماری ایدز در جهان مهم می‌باشند (۲). مقاوم بودن این میکروب‌ها نسبت به داروهای اصلی ضدسلی نیز از مشکلات دیگری است که گسترش این میکروب‌ها و عدم تشخیص صحیح آنها در نمونه‌های بیماران به همراه دارد (۳).

اهمیت دیگر این میکوباکتریوم‌ها در تحریک سیستم ایمنی می‌باشد که می‌تواند نقش عمده‌ای در تکامل سیستم ایمنی مهره‌داران ایفاء کند.

تماس با گونه‌های مختلف میکوباکتری‌ها می‌تواند یک حدی از ایمنی اکتسابی طبیعی در برابر میکوباکتریوم تویرکلوزیس را بوجود آورد و بدن را برای پذیرش اثر حفاظتی واکسن BCG آماده نماید و اثر آن را تقویت کند. همچنین بعضی از انواع آن باعث کاهش اثرات واکسن BCG می‌شوند. به عبارتی دیگر، بعضی از گونه‌های میکوباکتریوم‌های محیطی باعث تقویت و بعضی موجب

تضعیف سیستم ایمنی می‌شوند (۴).

در بررسی‌های مختلف در زمینه سوش‌های تقویت کننده و تضعیف کننده محققین به این نتیجه رسیدند که گونه‌هایی نظیر میکوباکتریوم واکسی^۱ و نانکروموژنیکوم^۲ تقویت کننده و میکوباکتریوم مارینیوم^۳ و میکوباکتریوم کانزاسی^۴ تضعیف کننده می‌باشند (۵).

استان گلستان از استان‌هایی است که شیوع بیماری سل در آن بسیار بالاست ولی از طرفی شهرستان‌هایی از استان هستند که بیماری سل در آنها کمتر دیده می‌شود. به عبارتی دیگر، در استان گلستان شهرستان‌هایی با شیوع بالای بیماری سل و همچنین شهرستان‌هایی با شیوع پایین بیماری سل وجود دارد. هدف ما بررسی مقایسه‌ای میکوباکتریوم‌های محیطی در خاک این دو منطقه می‌باشد.

مواد و روش‌ها

برای این مطالعه ۲۲۰ نمونه از خاک مناطق مختلف استان تهیه شد. ۲۰ محل در مناطق کم‌شیوع سطح استان به طور تصادفی تعیین گردید و از هر محل ۵ نمونه خاک تهیه شد (جمعاً ۱۰۰ نمونه). برای مناطق پرشیوع بیماری سل ۲۴ محل تعیین و از هر محل ۵ نمونه خاک تهیه شد (جمعاً ۱۲۰ نمونه). نمونه‌های خاک از عمق ۵-۳ سانتی متری خاک، ترجیحاً از خاک مرطوب و گل آلود برداشت شد، چون احتمال حضور میکوباکتریوم‌های محیطی در خاک مرطوب بیشتر است. نمونه‌ها در پلاستیک‌های علامت گذاری شده به آزمایشگاه منتقل شدند.

ما برای تیمار و کشت نمونه‌ها در یک لوله آزمایش مقدار ۱۰ سی‌سی آب مقطر استریل به همراه چند قطره محلول

^۱ M. vaccae

^۲ M. nonchromogenicum

^۳ M. marinum

^۴ M. kansasii

سویه میکوباکتریوم از خاک این مناطق جدا شد که این سویه‌ها متعلق به ۸ گونه مختلف بود. اما در مناطق کم‌شیوع بیماری سل از ۱۰۰ نمونه مورد بررسی در ۶۶ محیط رشد مشاهده گردید و در آن جمعاً ۱۱۴ سویه رشد نمودند که متعلق به ۱۲ گونه مختلف مایکوباکتریوم بود (جدول ۱).

جدول ۱: توزیع فراوانی موارد کشت مثبت مایکوباکتریوم

محیطی از خاک مناطق مورد مطالعه در استان گلستان

منطقه پرشیوع بیماری سل	منطقه کم شیوع بیماری سل	جمع	
تعداد نمونه مورد مطالعه	۱۲۰	۱۰۰	۲۲۰
تعداد نمونه حاوی میکوباکتریوم	۲۵ (۲۰/۸)	۶۶ (۶۶)	۹۱ (۴۱/۴)
تعداد گونه‌های جدا شده	۸	۱۲	۱۳

اعداد داخل پرانتز نشان‌دهنده درصد است.

تعداد مواردی که رشد باکتری در محیط لوون اشتاین صورت گرفته در دو محیط اختلاف معنی دار دارد ($P < 0.05$). تنوع گونه‌ها نیز در مناطق کم‌شیوع بیماری سل بیشتر از مناطق پرشیوع می‌باشد.

در مجموع در خاک مناطق مورد بررسی در استان گلستان از جمع ۲۲۰ نمونه مورد آزمایش در ۹۱ لوله رشد میکوباکتریوم مشاهده گردید که مربوط به ۱۶۱ سویه می‌باشد که بعد از تست‌های زیست - شیمیایی در ۱۳ گونه مختلف قرار گرفت.

شایع‌ترین گونه‌ها در دو منطقه به ترتیب شامل چهارگونه فورچوئیتوم، فلاویسنس، چلونه‌ای و ترمورزیستیل بود. ۷۸/۶ درصد سویه‌ها به منطقه پرشیوع و ۶۸/۲ درصد سویه‌ها به منطقه کم‌شیوع اختصاص داشتند (جدول ۲).

فقط گونه گاستری در منطقه پرشیوع بیماری سل جدا شده که در منطقه کم‌شیوع بیماری یافت نشد اما چهارتا از

توئین ۸۰ درصد^۱ وارد کرده و یک گرم از گل مورد آزمایش را به آن افزودیم (۶). توئین ۸۰ درصد اسید چربی است با زنجیره بلند که برای پراکندگی میکوباکتریوم‌ها در محلول به کار می‌رود.

این مخلوط را برای مدت ۳۰ دقیقه با دستگاه تکان‌دهنده بهم زده و سپس همین مدت به حال خود می‌گذاشتیم. آنگاه در یک لوله ساتریفوژ، ۳ سی‌سی از محلول فوق را وارد کرده و به مقدار هم حجم آن یعنی ۳ سی‌سی محلولی شامل ۱۱/۷ گرم در لیتر سود سوزآور و هیپوکلریت سدیم ۵ درصد به نسبت ۶ قسمت سود با یک قسمت هیپوکلریت سدیم اضافه کردیم (۶).

عمل محلول ذکر شده این است که برای سایر میکروارگانیسم‌های موجود در خاک سمی است ولی برای میکوباکتریوم‌ها سمی نمی‌باشد و به ما امکان داد تا بتوانیم میکوباکتریوم‌های احتمالی خاک را جدا کنیم. سپس لوله‌ها را برای مدت ۳۰-۱۵ دقیقه در دور ۲۰۰۰ ساتریفوژ کردیم.

چون محلول تیمار در زمان طولانی برای خود میکوباکتری‌ها نیز مضر است، باید عمل خنثی‌سازی را نیز انجام می‌دادیم که برای این منظور از آب مقطر استریل استفاده کردیم. پس از ساتریفوژ از رسوب باقی‌مانده، دو لوپ روی محیط کشت لوون اشتاین جانشون کشت دادیم (۶). نتایج رشد میکوباکتریوم‌ها در دو منطقه براساس تعیین درصد مورد مقایسه قرار گرفت.

یافته‌ها

از ۱۲۰ نمونه خاک مورد بررسی از مناطقی که شیوع بالای بیماری سل داشتند تنها در ۲۵ مورد کشت از نظر میکوباکتریوم‌ها مثبت گردید (۲۰/۸ درصد) چون در بعضی از محیط‌های کشت بیش از یک کلنی ظاهر گردید جمعاً ۴۷

^۱ Tween 80

گونه‌هایی که در خاک مناطق کم‌شیوع بیماری یافت شده بود در منطقه پرشیوع یافت نگردید.

جدول ۲: توزیع فراوانی انواع مایکوباکتریوم‌های محیطی

جدا شده از خاک مناطق مورد مطالعه در استان گلستان

نوع	منطقه	پرشیوع		کم‌شیوع		مجموع نمونه‌ها	
		تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
م.فورچوئتیوم	۱۶	۳۴	۱۹	۱۶/۶	۳۵	۲۱/۸	
م. فلاوسنس	۱۰	۲۱/۲	۲۳	۲۰/۱	۳۳	۲۰/۵	
م.چلونه‌ای	۶	۱۲/۸	۲۱	۱۸/۴	۲۷	۱۶/۸	
م.ترموزوستیسیل	۵	۱۰/۶	۱۵	۱۳/۱	۲۰	۱۲/۴	
م.فلنی	-	-	۱۴	۱۲/۳	۱۴	۸/۷	
م.تری‌ویال	۴	۸/۵	۶	۵/۳	۱۰	۶/۲	
م.تررا	-	-	۶	۵/۳	۶	۳/۷	
م.گوردونه	-	-	۴	۳/۵	۴	۲/۵	
م.فالاکسی	۲	۴/۳	۲	۱/۸	۴	۲/۵	
م.گاستری	۳	۶/۴	-	-	۳	۱/۹	
م.شیموئیدی	-	-	۲	۱/۸	۲	۱/۲	
م.مارینوم	۱	۲/۱	۱	۰/۹	۲	۱/۲	
م.کانزاسی	-	-	۱	۰/۹	۱	۰/۶	
جمع	۴۷	۱۰۰	۱۱۴	۱۰۰	۱۶۱	۱۰۰	

بحث

در ۱/۴ درصد نمونه‌های خاک تهیه شده از مناطق مختلف استان گلستان، حداقل یک سویه میکوباکتریوم محیطی جدا گردید. از این نظر یافته ما با مطالعات مشابهی که با همین منظور انجام شد در خاک استان مازندران (۷)، از رسوب استخرهای پرورش ماهی در استان‌های گیلان و مازندران (۸) و در خاک استان گیلان (۹)، مطابقت دارد که به ترتیب منجر به جداسازی ۳۳/۳ درصد، ۳۴/۰۸ درصد و ۵۸/۶ درصد گردید. این می‌تواند به علت تشابه نسبی آب و هوا، رطوبت و پوشش گیاهی در این سه استان باشد. زیرا مطالعات مختلف به خوبی

نشان داده است که عوامل فوق به همراه PH خاک در تعیین فلور میکوباکتریوم‌های منطقه تاثیر به سزایی دارند (۱۰). از طرفی دیگر، مطالعاتی که در خاک اهواز و آذربایجان شرقی انجام شد به ترتیب وفور میکوباکتریوم‌های محیطی در خاک این شهرها را برابر ۲۴/۱ درصد (۱۱) و ۱۲/۱ درصد (۵) برآورد نمودند که آشکارا، پایین‌تر از یافته‌های مطالعه حاضر می‌باشد. این نیز می‌تواند ناشی از عوامل محیطی ذکر شده باشد.

فراوانی میکوباکتریوم‌های محیطی در شهرهای گنبد، علی‌آباد و مینودشت که در این مطالعه به عنوان شهرهای پرشیوع بیماری مورد بررسی قرار گرفت برابر ۲۰/۸ درصد می‌باشد. این شهرها به نسبت شهرهای گروه با شیوع پایین بیماری یعنی بندرگز، بندرترکمن و کردکوی از آب و هوایی گرم‌تر، رطوبت پایین‌تر و فاصله بیشتر از دریا برخوردار می‌باشند. احتمالاً به همین دلیل تعداد میکوباکتریوم‌های جدا شده از خاک آن کمتر از منطقه ساحلی و حاشیه جنگل می‌باشد و به آمار شهرهای اهواز و اهر در آذربایجان شرقی نزدیک‌تر است (جدول ۳).

جدول ۳: فراوانی مایکوباکتریوم‌های محیطی

جدا شده از خاک مناطق مختلف در کشور

نام منطقه	فراوانی		شايع‌ترين ميكوباكترىوم
	تعداد	درصد	
آذربایجان شرقی	۹۲	۱۲/۱	م.آویوم
اهواز	۸۷	۲۴/۱	م.زلگایی
گیلان	۶۱	۵۸/۶	م.تررا
مازندران	۵۳	۳۳/۳	م.فورچوئتیوم
استخرهای پرورش ماهی گیلان و مازندران	۱۰۷	۳۴/۰۸	م.فورچوئتیوم
استان گلستان	۹۱	۴۱/۳۶	م.فورچوئتیوم

اگرچه عوامل محیطی علت اصلی اختلاف در تعداد و تنوع میکوباکتریوم‌های محیطی در دو منطقه موردنظر در استان گلستان می‌باشد ولی نشان‌دهنده این است که احتمال برخورد سیستم ایمنی ساکنین این مناطق با میکوباکتریوم‌های محیطی متفاوت است. این میکوباکتریوم‌ها می‌توانند به عنوان دوز یادآور واکسن BCG دائماً سیستم ایمنی را در حال تحریک و فعالیت نگه‌دارند و در صورت برخورد با میکروب سل بدن را از استعداد پاسخگویی مناسب برخوردار نمایند زیرا مطالعات نشان داده است که واکسن BCG با گذشت زمان کارایی کمتری پیدا می‌کند و دریافت دوزهای یادآور با انواع محیطی می‌تواند در حفظ کارایی آن مؤثر باشد و این احتمالاً یکی از پدیده‌هایی است که در مناطق با شیوع پایین بیماری سل وجود دارد و در کنار عوامل متعددی که در بروز سل در یک منطقه مؤثرند (فقر، وضعیت بهداشتی، فراوانی تماس با میکروب سل، عوامل ژنتیکی و ...) می‌تواند پراکندگی سل را تحت تأثیر قرار دهد.

نقش بعضی از انواع میکوباکتریوم‌های محیطی مثل میکوباکتریوم واکسی و نانکرومونیکوم در تقویت سیستم ایمنی و همچنین نقش ماریوم و کانزاسی در تضعیف سیستم ایمنی کاملاً تایید شده است (۵). اما با مقایسه انواع میکوباکتریوم‌های محیطی در دو منطقه مورد مطالعه این سوال در ذهن ایجاد می‌شود که آیا سایر انواع محیطی نیز قادر به تقویت یا تضعیف سیستم ایمنی هستند و می‌توان آنها را در گروه میکوباکتریوم‌های تقویت کننده قرارداد یا خیر؟

براین اساس انجام مطالعات دقیق‌تر روی میکوباکتریوم

فلئی، تررا و گوردونا که از شیوع نسبتاً بالایی در منطقه کم‌شیوع بیماری سل برخوردار هستند ولی در منطقه دیگر یا جدا نشده و یا شیوع کمتری دارند باید صورت پذیرد. در این میان توجه به میکوباکتریوم فلئی به علت فراوانی زیاد در یک منطقه و عدم جداسازی در منطقه دیگر حائز اهمیت بیشتری می‌باشد یعنی پیشنهاد می‌شود که با بررسی آنتی‌ژن‌های این باکتری و اثر آن بر سیستم ایمنی حیوانات آزمایشگاهی نقش آن مشخص‌تر گردد. همچنین مطالعات دقیق‌تر در مورد اثر تماس‌های مکرر با میکوباکتریوم فورچوئیتوم، فلاونس و چلونه‌ای در تحریک سیستم ایمنی نیز ضروری به نظر می‌رسد. شواهد متعدد حاکی از آن است که بین فراوانی میکوباکتریوم‌های محیطی جدا شده از نمونه‌های بالینی در یک منطقه با وفور میکوباکتریوم‌های موجود در محیط به خصوص خاک، آب و ائروسول‌های آن منطقه رابطه مستقیم وجود دارد (۱۲). برخی محققان فراوان بودن موارد میکوباکتریوم کانزاسی در امریکا (۱۳)، آویوم در جنوب شرقی امریکا، زنوبی در فرانسه و انگلیس (۱۴) را ناشی از این واقعیت می‌دانند. در یک مطالعه در اهواز نیز مشخص گردید که بسیاری از میکوباکتریوم‌های نامعمول جدا شده از بیماران ریوی مشکوک به سل همان انواعی هستند که در خاک منطقه نیز شایع می‌باشند، مخصوصاً میکوباکتریوم فورچوئیتوم و گوردونه. بنابراین پیشنهاد می‌گردد که در مطالعه موارد مشکوک به سل در استان گلستان جستجو برای میکوباکتریوم‌های غیرسلی به خصوص گونه فورچوئیتوم که در منطقه ما بالاترین شیوع را دارد انجام گیرد.

منابع

- ۱) ضیاظریفی، ابوالحسن. زیست‌شناسی و باکتری‌شناسی میکوباکتریوم‌ها. چاپ اول. تهران. انتشارات ابوریحان. ۱۳۶۶. صفحه ۱۴۳.
- 2) Covert TC, Rodgers MR, Reyes AL, Stelma GN. Occurrence of nontuberculous mycobacteria in environmental samples. *Applied and Environmental Microbiology*. 1999; 65: 2492-2496.
- 3) Papilln F. Nontuberculous mycobacteria disease of the lung in a pulmonology Bul. *IUATLD*. 1988; 63(4): 1719.
- ۴) ولایتی، علی‌اکبر. ضیاظریفی، ابوالحسن. طباطبایی، سیدجواد و مسجدی، محمدرضا. مبانی سل‌شناسی. جلد اول. تهران. دفتر نشر فرهنگ اسلامی. ۱۳۷۱. صفحات: ۱۲۳ تا ۱۲۹.
- ۵) قاضی سعیدی، کیومرث. بررسی وفور میکوباکتریوم‌های محیطی به وسیله کشت خاک در منطقه اهر آذربایجان شرقی. پایان‌نامه جهت اخذ درجه تخصصی در رشته پاتوبیولوژی (میکروبیولوژی). دانشگاه تهران. دانشکده بهداشت. سال ۶۱-۱۳۶۰. صفحات ۷۸ تا ۸۵.
- 6) Donoghue HD, Overend E, Stanford JL. A longitudinal study of environmental mycobacteria on a farm in South-West England. *Journal of Applied Microbiology*. 1997; 82(1): 57-67.
- ۷) رستگار، مژگان. بررسی وفور میکوباکتریوم‌های محیطی در منطقه مازندران به وسیله کشت خاک. پایان‌نامه جهت اخذ مدرک کارشناسی ارشد باکتری‌شناسی پزشکی. دانشگاه تهران. دانشکده بهداشت. ۱۳۷۰-۷۱. صفحات ۶۵ تا ۶۹.
- ۸) محمدی، مریم. بررسی میکوباکتریوم‌های محیطی در استخرهای پرورش ماهی استان‌های شمالی ایران (گیلان و مازندران). پایان‌نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد باکتری‌شناسی پزشکی. دانشگاه تهران. دانشکده بهداشت. ۱۳۷۲-۷۳. صفحات ۵۴ تا ۶۱.
- ۹) بشیری، علی‌رضا. بررسی وفور میکوباکتریوم‌های محیطی به وسیله کشت خاک در منطقه گیلان. پایان‌نامه جهت اخذ کارشناسی ارشد باکتری‌شناسی پزشکی. دانشگاه تهران. دانشکده بهداشت. ۱۳۶۶-۶۷. صفحات ۵۳ تا ۵۵.
- 10) Ratledg C, Stanford J. The biology of mycobacteria. First edition. London. Academic Press INC. 1982; 251-253.
- ۱۱) رعایایی اردکان، محمد. قاضی سعیدی، کیومرث. جمشیدیان، محمود. جداسازی میکوباکتریوم‌های محیطی از خاک و بیماران مشکوک به سل در منطقه اهواز. مجله بیماری‌های عفونی و گرمسیری ایران. سال ۱۳۷۸. سال چهارم شماره ۱۰. صفحات ۶۹ تا ۷۸.
- 12) Brook WR. Epidemiology by nontuberculous mycobacteria. *American Review infections diseases*. 1984; 13: 630-633.
- 13) Tellis CJ, Putnam JS. Pulmonary disease caused by nontuberculous mycobacteria. *Medical Clinical of North American*. 1980; 64(3): 433-446.
- 14) Radford AJ. *Mycobacterium ulcerans* in Australia. *AUST NZ J M*. 1975; 5: 162-166.