شناسایی گونه‌های مایکوباکتریوم‌های غیر توبرکلوز جدا شده از منابع مختلف نمونه‌های آب اصفهان بر اساس ویژگی‌های فنوتیپیک

شراره مقیم [۱] بهرام نصر اصفهانی [۲] نفیسه السادات حسینی [۳] انسیه ساریخانی [۳]
جمشید فقری [۱] تهمینه نریمانی [۳] حسین فاضلی [۱] فرزانه صادقی [۳]

(دریافت ۹۰/۵/۲۵ پذیرش ۹۰/۹/۵)

چکیده

به‌دلیل افزایش بیماری‌های نقص ایمنی در دهه‌های اخیر، مایکوباکتریوم‌های غیر توبرکلوزیس که پیش‌تر تنها به‌عنوان مایکوباکتریوم‌های محیطی شناخته می‌شدند، به‌عنوان پاتوژن‌های مهمی مطرح گردیده‌اند. در این مطالعه، تعداد ۸۵ نمونه آب از منابع مختلف اصفهان برای بررسی وجود آلودگی به مایکو باکتریوم‌های محیطی تهیه و کشت داده شد و از ویژگی‌های فنوتیپیک برای تعیین گونه استفاده گردید. از مجموع ۸۵ نمونه آب از منابع مختلف، ۲۴/۷ درصد دارای یک گونه NTM بود. از ۲۱ گونه شناسایی شده، مایکوباکتریوم فورچوئیتوم با فراوانی نسبی ۲۳/۸ درصد (۵مورد)، *م. اسمگماتیس* ۱۴/۳ درصد (۳مورد)، مایکوباکتریوم شبه چلونه‌ای، تره کمپلکس، گوردونه و موکوژنیکوم به‌طور یکسان با فراوانی نسبی ۹/۵ درصد (از هرکدام دو مورد) و آویوم کمپلکس، فله‌ای، زنوپی، فالاکس و فلاوسنس با فراوانی نسبی ۴/۸ درصد (از هرکدام یک مورد) تشخیص داده شدند. با توجه به افزایش شیوع بیماریهای نقص سیستم ایمنی در جامعه و فراوانی گونه‌های مایکوباکتریوم در نمونه‌های محیطی از جمله منابع مختلف آب آشامیدنی و غیر آشامیدنی اصفهان، آگاهی از چگونگی پراکندگی این گونه‌ها در نواحی جغرافیایی مختلف به‌دلیل متفاوت بودن استراتژی درمانی آنها ضروری بوده و لازم است در کلینیک به‌طور جدی مورد توجه قرار گیرند.

واژه‌های کلیدی: مایکو باکتریوم‌های غیر توبرکلوزیس، ویژگی های فنوتیپیک، نمونه‌های آب اصفهان

Identification of Non Tuberculous Mycobacteria Isolated from Isfahan Different Water Sources Using Phenotypic Characterization Tests

Sharareh Moghim[1] *Bahram Nasr Isfahani [2]* *Nafisesadat Hosseini[3]*
Ensiye Sarikhani[3] *Jamshid Faghri[1]* *Tahmineh Narimani[3]* *Hossein Fazeli[1]*
Farzaneh Sadeghi[3]

(Received Aug. 16, 2011 Accepted Nov. 26, 2011)

Abstract

In recent decades, by increasing immunocompromised patients, disease related to nontuberculous mycobacteria, previously known as environmental opportunistic pathogen, has been raised. In this study, 85 water samples from different sources in Isfahan were evaluated for the presence of NTM. Phenotypic tests were used to identify NTM species. Twenty one out of 85 (24.7%) collected water samples had at least one NTM. Of these, 23.8% (5 isolates) and 14.3 % (3 isolates) were *M. furtuitum* and *M. smegmatis,* respectively. Two cases for each isolates (9.5%) were identified as *M. chelonae* like organisms, *M. terrae* complex, *M. gordonae* and *M. mucogenicum*. One cases for each isolates (4.8%) was determined as *M. avium* complex, *M. phlei*, *M. xenopi*, *M. fallax*, and *M. flavescence*. The results showed the incidence of different species of NTM in this geographical region in Iran. Because of increasing immunocompromised disease in communities, and high frequency of NTM in different geographical regions, understanding the NTM distribution in environment would help clinicians to manage proper treatment strategy.

Keywords: Nontuberculous Mycobacteria, Phenotypic Characteristics, Isfahan Water Samples.

۱- استادیارگروه میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
۲- استادیارگروه میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان (نویسنده مسئول)
(۰۳۱۱) ۷۹۲۲۴۹۳ nasr@hlth.mui.ac.ir
۳- کارشناسی ارشد گروه میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

1. Assis. Prof. of Microbiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Science, Isfahan
2. Assis. Prof. of Microbiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Science, Isfahan (Corresponding Author) (+98 311) 7922493 nasr@hlth.mui.ac.ir
3. M.Sc. of Microbiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Science, Isfahan

۱- مقدمه

مایکوباکتریوم‌های غیر توبرکلوز[1] شامل تمامی گونه‌های مایکوباکتریوم به‌جز کمپلکس مایکوباکتریوم توبرکلوزیس هستند. در سالهای اخیر با افزایش بیماری‌های سرکوب کننده ایمنی مانند ایدز و همچنین افزایش استفاده از داروهای سرکوب کننده ایمنی و کورتیکواستروئیدها تعداد موارد گزارش شده بیماری‌ها توسط این گروه از میکروارگانیسم‌ها افزایش یافته است. بیماری‌های ریوی، پوستی، عفونت بافت نرم و دیگر انواع عفونت به‌وسیله این باکتری‌ها ایجاد می‌شود. شایع‌ترین فرم این بیماری‌ها عفونت ریوی است. با این‌حال عفونت در غدد لنفاوی، زخم یا استخوان و گاهی بیماری‌های منتشره توسط این باکتری‌ها گزارش شده است. گونه‌های NTM به‌عنوان یکی از عوامل مهم عفونت‌های بیمارستانی و شغلی نیز محسوب می‌شوند[۱-۴]. فقدان مدارکی که نشان دهنده انتقال عامل بیماری از طریق شخص به شخص باشد نمایانگر آن است که محیط می‌تواند یک منبع مهم عفونت به حساب آید [۳]. بنابراین بررسی منابع احتمالی و همین‌طور گونه‌های شایع در هر منطقه جغرافیایی نیازمند تحقیق و مطالعه است.

گونه‌های NTM از نمونه‌های خاک، آب، حیوانات، مواد گیاهی و پرندگان جداسازی شده‌اند. بر اساس تحقیقات به‌عمل آمده سیستم‌های پیچیده آب در ساختمان‌های بزرگ، منابع مهمی برای عفونتهای مایکوباکتریایی هستند ولی عفونت حتی پس از تماس با منابع آب ساده‌تر، از قبیل آب گرم، منابع آب طبیعی و آب استخرها نیز گزارش شده است. به‌نظر می‌رسد لایه بیوفیلم تشکیل شده در سطح لوله‌های آب، اثر مهمی بر جمعیت میکربی آبهای لوله‌کشی داشته و حتی در این بین ممکن است میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا نیز تشکیل بیوفیلم داده و وارد آب لوله‌کشی شوند و سلامت عمومی جامعه را به خطر بیندازد [۵]. در واقع تشکیل بیوفیلم یک استراتژی موفق برای بقاء این ارگانیسم‌های هیدروفوبیک است [۶]. آب لوله‌کشی، منبع اصلی بیشتر پاتوژن‌های انسانی گروه NTM بوده و به‌همین دلیل توجه بهداشت عمومی را به خود جلب کرده است [۵].

در مطالعه‌ای که بر روی نمونه‌های برجهای خنک کننده در آمریکا صورت گرفته است، ۷۵ درصد از نمونه‌ها دارای NTM بوده اند[۷]. در مطالعه دیگر توسط کاورت و همکاران[2]، از ۵۴ درصد نمونه‌های یخ و ۳۵ درصد نمونه‌های آب آشامیدنی گونه‌های مختلف NTM جداسازی شده است[۳]. شین[3] و لی[4] نشان داده‌اند که نیمی از نمونه‌های آب در محیط بیمارستان حاوی گونه‌های NTM است [۸].

در مقایسه با گونه‌های دیگر باکتریایی، مایکوباکتریوم‌ها، مقاومت بالایی به ضد عفونی کردن با مواد شیمیایی از قبیل کلر نشان می‌دهند و بنابراین می‌توانند وارد سیستم آب شهری شوند [۹-۱۱]. از آنجا که قبل از درمان و آنتی بیوگرام باکتری تعیین جنس و گونه آن از اهمیت بسزایی برخوردار است، لذا بررسی راههای منتهی به تشخیص گونه و شناسایی گونه‌های غالب در هر منطقه جغرافیایی الزامی خواهد بود.

هدف از این مطالعه بررسی میزان آلودگی آبهای سطحی، عمقی، لوله کشی، شرب، آب سردکن‌ها و همچنین آبهای استخرهای شنا، یونیت‌های دندانپزشکی و سیستم‌های همودیالیز بیمارستان‌های شهر اصفهان با مایکوباکتریوم‌های آتیپیک و تعیین گونه این باکتری‌ها با استفاده از روشهای فنوتیپیک بود.

۲- مواد و روشها

این تحقیق از نوع توصیفی-تحلیلی بود و در طی زمستان ۱۳۸۷ تا تابستان ۱۳۸۹ انجام شد. تعداد ۸۵ نمونه آب به‌روش تصادفی از استخرهای شنا (۷ نمونه)،آب یونیت‌های دندانپزشکی (۹ نمونه)، همودیالیز (۷ نمونه)،آب سردکن ادارات (۱۰نمونه)، آب لوله‌کشی شرب (۱۲ نمونه)، آب غیر شرب (۱۲نمونه)، آبهای معدنی آماده فروش (۷ نمونه)، آب فواره‌های سطح شهر (۱۰نمونه)، آب رودخانه (۶ نمونه) و آب نزدیک به جوش (نمونه آب گرفته شده از قسمت آب گرم دستگاههای آب سرد و گرم‌کن موجود در ادارات که دمای آن در حدود ۸۵ تا ۹۰ درجه سلسیوس است) (۵ نمونه) جمع‌آوری شدند.

دمای آب، میزان pH و میزان کلر آزاد هنگام نمونه‌گیری با روش DPD اندازه‌گیری و ثبت شد (کیت آمکور). نمونه‌های آب در فلاسک‌های ارلن مایر ۲ لیتری حاوی تیوسولفات سدیم با استفاده از روش گریب[5] جمع‌آوری و به‌منظور کاهش میکروارگانیسم‌های ناخواسته به‌مدت ۳۰ دقیقه در معرض ۰/۰۵ درصد ستیل پریدینیوم کلراید قرار داده شد [۱۲]. نمونه‌ها از فیلتر ۰/۴۵ میکرومتر عبور و فیلتر به محیط کشت هیمدیا[6] حاوی ۵۰۰ میکروگرم در لیتر سیکلوهگزامید انتقال داده شد و پلیت‌ها در دمای ۳۷ و ۲۵ درجه سلسیوس به‌مدت یک تا چهار هفته انکوبه گردید [۱۳-۱۵]. در پاساژهای نهایی، تعداد ۲۱ ایزوله NTM بعد از رنگ‌آمیزی و تأیید اسیدفاست بودن جدا و برای تعیین خصوصیات بیوشیمیایی و فنوتیپیک مورد بررسی قرار گرفت. برای کشت

[1] Non Tuberculous Mycobacterium (NTM)
[2] Covert et al.
[3] Shin
[4] Lee
[5] Grab sampling method
[6] 7H10 (M199, Himedia)

باکتری‌ها از محیط‌های میدل بروک[1] هیمدیا برای غنی‌سازی، میدل بروک 7H10 برای رشد اولیه و یافتن کلونی خالص و LJ (لوونشاین-جانسون) به‌منظور آزمایش‌های بیوشیمیایی و تولید رنگدانه استفاده شد [۱۶].

آزمایش‌های فنوتیپیکی و بیوشیمیایی مورد استفاده در این مطالعه شامل آریل سولفاتاز، کاتالاز نیمه کمّی، کاتالاز مقاوم به‌حرارت، نیترات، سرعت رشد، تولید رنگدانه، اوره‌آز، هیدرولیز توئین ۸۰ و پیرازین آمیداز بود.

۳- نتایج و بحث

میانگین pH در نمونه‌های مورد بررسی ۷/۶ و میانگین دما ۲۳/۲۴ درجه سلسیوس بود. میزان غلظت کلر کل در نمونه‌های مورد بررسی از صفر تا ۲ میلی‌گرم در لیتر متفاوت بود. تعداد و درصد نمونه‌های آب مثبت از نظر حضور NTM در جدول ۱ نشان داده شده است. در این مطالعه ۲۱ ایزوله مایکوباکتریوم به‌دست آمد که بر اساس ویژگی‌های رشد و نتایج حاصل از آزمایش‌های بیوشیمیایی تشخیص داده شدند(جدول ۲). گونه‌های شناسایی شده *مایکوباکتریوم فورچوئیتوم*[2] با فراوانی نسبی ۲۳/۸ درصد (۵مورد)، *م. اسمگماتیس*[3] ۱۴/۳درصد (۳مورد)، *مایکوباکتریوم شبه چلونه‌ای*[4]، *م. تره کمپلکس*[5]، *م.گوردونه*[6] و *م. موکوژنیکوم*[7] به‌طور یکسان با فراوانی نسبی ۹/۵درصد (از هرکدام دو مورد) و *م. آویوم کمپلکس*[8]، *م. فله‌ای*[9]، *م. زنوپی*[10]، *م. فالاکس*[11] و *م. فلاوسنس*[12] با فراوانی نسبی ۴/۸ درصد (از هرکدام یک مورد)

[1] Middle- Brook

[2] *M. Fortuitum*
[3] *M. Segmatis*
[4] *M. Chelone Like Organisms*
[5] *M. Terrae Complex*
[6] *M. Gordonae*
[7] *M. Mucogenicum*
[8] *M. Avium Complex*
[9] *M. Phlei*
[10] *M. Xenopi*
[11] *M. Fallax*
[12] *M. Flavescence*

جدول ۱- پارامترهای مربوط به نمونه های آب مورد مطالعه و گونه های NTM شناسائی شده

محل نمونه‌گیری	دما (C̊)	میزان کلر (mg/L)	pH	نام باکتری
آب چاه	۲۳	۰	۷/۵	*م.گوردونه*
آب غیر قابل شرب	۲۰	۰	۷/۶	*م. آویوم کمپلکس*
آب استخر	۲۹	۱/۸	۷/۲	*م. شبه چلونه‌ای*
آب لوله کشی	۲۲	۰/۵	۷/۷	*م.اسمگماتیس*
آب استخر	۲۹	۱/۸	۷/۲	*م. فله‌ای*
آب فواره	۲۰	۰	۷/۶	*م. زنوپی*
آب شرب لوله کشی	۲۲	۰/۵	۷/۷	*م. موکوژنیکوم*
آب سردکن	۸	۰/۲	۷/۴	*م.اسمگماتیس*
آب شرب لوله کشی	۲۲	۰/۵	۷/۷	*م.فالاکس*
آب یونیت دندانپزشکی	۲۵	۰/۵	۷/۴	*م.اسمگماتیس*
آب فواره	۲۰	۰	۷/۶	*م. موکوژنیکوم*
آب غیر قابل شرب	۲۷	۰/۲	۸	*م. تره کمپلکس*
آب سردکن	۷	۰	۷/۵	*م. فورچوئیتوم*
آب غیر قابل شرب	۲۵	۰	۷/۴	*م. تره کمپلکس*
آب غیر قابل شرب	۲۰	۰	۷/۸	*م. فورچوئیتوم*
آب شرب لوله کشی	۲۲	۰/۵	۷/۷	*م.گوردونه*
آب سردکن	۶	۰	۷/۶	*م. فلاوسنس*
آب سردکن	۸	۰	۷/۵	*م. فورچوئیتوم*
آب سردکن	۸	۰	۷/۶	*م. فورچوئیتوم*
آب غیر قابل شرب	۱۸	۰	۷/۱	*م. فورچوئیتوم*
آب یونیت دندانپزشکی	۲۲	۰/۲	۷/۴	*م. شبه چلونه‌ای*

جدول ۲- نتایج آزمایش‌های بیوشیمیایی ایزوله‌های مایکوباکتریوم غیر توبرکلوزیس جدا سازی شده از منابع آب مختلف

شماره NTM	گونه NTM	رشد در ۲۵°c	رشد در ۳۷ °c	تولید پیگمان	سرعت رشد	مورفولوژی کلونی	هیدرولیز توئین ۸۰ (۱۰روز)	هیدرولیز توئین ۸۰ (۷روز)	کاتالاز مقاوم به حرارت	کاتالاز نیمه کمی	پیرازین آمیداز (۷روز)	پیرازین آمیداز (۴روز)	آریل سولفاتاز ۲هفته	آریل سولفاتاز ۳روز	اوره آز	احیاء نیترات
۱	م.گوردونه	+	+	Sc	S	Sm	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-
۲	م. آویوم کمپلکس	+	+	Sc	M	Sm	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
۳	م. شبه چلونه ای	+	+	N	F	Sm	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+
۴	م.اسمگماتیس	+	+	Sc	F	Sm	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+
۵	م. فله ای	+	+	Sc	F	S/R	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
۶	م. زنوپی	+	+	Sc	S	Sm	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
۷	م. موکوژنیکوم	+	+	N	F	Sm	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-
۸	م.اسمگماتیس	+	+	Sc	F	Sm	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+
۹	م.فالاکس	+	+	N	F	S/R	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+
۱۰	م.اسمگماتیس	+	+	Sc	F	Sm	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-
۱۱	م. موکوژنیکوم	+	+	N	S	Sm	+	+	-	-	+	+	-	-	-	+
۱۲	م. تره کمپلکس	+	+	Sc	M	Sm	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
۱۳	م. فورچوئیتوم	+	+	N	F	Sm	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
۱۴	م. تره کمپلکس	+	+	N	M	Sm	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+
۱۵	م. فورچوئیتوم	+	+	N	M	Sm	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+
۱۶	م.گوردونه	+	+	Sc	M	Sm	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
۱۷	م. فلاوسنس	+	+	Sc	F	Sm	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
۱۸	م. فورچوئیتوم	+	+	N	M	Sm	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+
۱۹	م. فورچوئیتوم	+	+	N	F	Sm	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
۲۰	م. فورچوئیتوم	+	+	N	F	Sm	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
۲۱	م. شبه چلونه‌ای	+	+	N	F	Sm	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-

Sc :اسکوتوکروموژن N : غیر کروموژن S :کند رشد(رشد پس از ۲هفته) F :سریع الرشد(رشد قبل از ۱هفته)
M :متوسط (رشد بین ۲-۱ هفته) Sm :صاف R:خشن

تشـخیص داده شـدند. م. *فورچوئیتـوم* در ۶۰ درصـد مـوارد از نمونـه‌هـای زیـر ۱۰ درجـه سلسـیوس جـدا گردیـد. سـایر نتـایج در جدولهای ۲ و ۳ نشـان داده شـده اسـت. در ایـن مطالعـه، تعـداد ۸۵ نمونـه آب از اسـتخرهای شـنا (۸/۲ درصـد)، آب یونیـت‌هـای دندانپزشـکی (۱۰/۶ درصـد)، همودیـالیز (۸/۲ درصـد)، آب سـرد دستگاه آب سردکن ادارات (۱۱/۸ درصـد)، آب لولـه‌کشـی شـرب (۱۴/۱درصد) و آب غیر شرب (۱۴/۱ درصد)، انواع آبهای معدنی آماده فـروش (۸/۲ درصـد)، آب حـوض و فـواره‌هـای سـطح شـهر (۱۱/۸درصد)، آب رودخانـه (۷ درصـد) و آب نزدیـک بـه جـوش (۶ درصد) از نظر حضور NTM مورد بررسـی قـرار گرفـت. میـزان pH، کلر تام و درجه حـرارت در محـل تعیـین و سـپس نمونـه‌هـا بـه آزمایشگاه منتقل گردید. نمونه‌های آب، فیلتر شـده و از محـیط‌هـای میدل بروک 7H9 به منظور غنی‌سازی، میدل بروک 7H10 غنی شده برای رشد اولیه و یافتن کلونی خالص و LJ (لوونشـاین- جانسـون) به منظور رشد ارگانیسم برای انجام آزمایش های بیوشـیمیایی شـامل تست آریل سولفاتاز، کاتالاز نیمه کمی، کاتالاز مقـاوم بـه حـرارت، نیترات، سرعت رشد، تولید رنگدانـه، اوره‌آز، هیـدرولیز تـوئین ۸۰، پیرازین آمیداز و آزمایش‌ها مکمل دیگر استفاده شد (جدول۲).

در نمونه‌های مورد بررسی، میانگین pH ۷/۶ و میانگین دمـا ۲۳ تـا ۲۴ درجه سلسیوس بـود. در ایـن مطالعـه مایکوبـاکتریوم‌هـای غیـر توبرکلوز به‌جز آبهای بـا دمـای بـالا و نزدیـک جـوش شـیرهای آب گـرم، از سـایر منـابع بـا دمـا، pH و میـزان کلـر متفـاوت (حتـی از استخرهای شنا وپوآرهای دندانپزشکی) نیـز جـدا گردیدنـد. در ایـن مطالعه مشخص گردید که ۲۴/۷ درصد از کل نمونه‌های آب حـاوی NTM است. این طیف وسیع حضور مایکوباکتریوم‌های محیطـی در نقاط مختلف شهر و وجود این باکتری‌هـا در غلظتهـای مختلـف کلـر (صفر تا ۲ میلی‌گـرم در لیتـر) و دماهـای متفـاوت (۶ تـا ۲۹ درجـه سلسیوس) نشان می‌دهد که این پارامترها تأثیر جدی بر میـزان بقـاء این میکروارگانیسم‌ها نداشته است. در این مطالعه مشـخص شـد کـه در منابع آب استخرها نیز که میزان کلر آزاد آن در حد بالای ۱/۸

جدول۳- تعداد ودرصد گونه‌های‌های مایکوباکتریوم جداشده از منابع مختلف آب شهر اصفهان

منبع	شماره NTM	تعداد و درصد نمونه‌ها	تعداد و درصد نمونه‌های مثبت	نام گونه مایکوباکتریوم
آب شرب لوله	۴،۹	۱۲ ٪۱۴/۱	۴ ٪۳۳/۳	*م.گوردونه، م.فالاکس، م. موکوژنیکوم، م.اسمگماتیس*
آب غیر شرب لوله	۱،۲، ۱۲، ۱۴، ۱۵، ۲۰	۱۲ ٪۱۴/۱	۶ ٪۵۰	*م. تره کمپلکس(۲)، م. فورچوئیتوم(۲)، م. آویوم کمپلکس، م. گوردونه*
آب فواره	۶،۱۱	۱۰ ٪۱۱/۸	۲ ٪۲۰	*م. موکوژنیکوم،م. زنوپی*
آب سرد کن	۸، ۱۳، ۱۷، ۱۸، ۱۹	۱۰ ٪۱۱/۸	۵ ٪۵۰	*م. فورچوئیتوم(۳)، م. فلاوسنس، م. اسمگماتیس*
پوآر دندانپزشکی	۱۰،۲۱	۹ ٪۱۰/۶	۲ ٪۲۲/۲	*م. شبه چلونه ای ، م. اسمگماتیس*
استخر شنا	۳،۵	۷ ٪۸/۲	۲ ٪۲۸/۶	*م. فله ای،م. شبه چلونه ای*
همو دیالیز	-	۷ ٪۸/۲	۰	-
آب معدنی	-	۷ ٪۸/۲	۰	-
رودخانه	-	۶ ٪۷	۰	-
آب نزدیک جوش	-	۵ ٪۶	۰	-

تا ۲ میلی‌گرم در لیتر است و همچنین از منابع آبهای طبیعی سطحی و زیرزمینی که میزان کلر آنها در حد صفر است نیز این ارگانیسم‌ها جداسازی شده است. با این‌حال و با در نظر گرفتن این‌که بیشترین میزان مایکوباکتریوم جداشده از آبهای غیر شرب بدون کلر بوده است، می‌توان نتیجه گرفت که میزان کلر آزاد، میزان جداسازی مایکوباکتریوم‌ها را در نمونه‌های قابل شرب کاهش داده ولی برای از بین بردن کامل آنها کافی نبوده است. مقایسه نتایج حاصل از این تحقیق با دیگر مطالعات تأیید کننده آن است که مطالعه روشهای ضد عفونی کننده آب با موادی غیر از کلر که از نظر بیولوژیکی بر سلامتی انسان کمترین تأثیر را داشته باشند و در عین حال بتواند این گروه از مایکوباکتریوم‌های محیطی را خصوصاً در مراکز بهداشتی درمانی، مراکز دندانپزشکی و استخرها و حمام‌های عمومی از لیست پاتوژن‌های فرصت طلب آب حذف کنند می‌تواند در مطالعات آینده لحاظ گردد[۱۷،۱۴ و ۱۸].

از مجموع ۸۵ نمونه آب از منابع مختلف، ۲۱ ایزوله از نمونه‌های آب جداسازی و با روشهای فنوتیپیک مورد شناسایی قرار گرفتند که شامل مایکوباکتریوم فورچوئیتوم با فراوانی نسبی ۲۳/۸ درصد (۵ مورد)، م. *اسمگماتیس* ۱۴/۳درصد (۳مورد)، مایکوباکتریوم *شبه چلونه‌ای*، م. *تره کمپلکس*، م. *گوردونه* و م. *موکوژنیکوم* به‌طور یکسان با فراوانی نسبی ۹/۵ درصد (از هرکدام دو مورد) و م. *آویوم کمپلکس*، م. *فله ای*، م. *زنوپی*، م. *فالاکس* و م. *فلاوسنس* با فراوانی نسبی ۴/۸درصد (از هرکدام یک مورد) بود.

هر چند طیف دمایی وسیعی در نمونه‌های دارای مایکوباکتریوم دیده می‌شود اما به‌نظر می‌رسد بعضی گونه‌ها در محدوده دمایی خاصی بیشتر دیده شده‌اند. به‌عنوان مثال م. *فورچوئیتوم* در ۶۰ درصد موارد از نمونه‌های آب با حرارت زیر ۱۰ درجه سلسیوس جدا شده است. در مطالعه رهبر و همکاران بر روی ۱۲۰ نمونه آب مناطق مختلف شهری و روستایی شمال غرب ایران، گونه‌های مایکوباکتریوم فورچوئیتوم و مایکوباکتریوم چلونه به‌عنوان گونه‌های غالب مایکوباکتریوم در نمونه‌های آب با کمک روشهای فنوتیپیک مرسوم شناسایی شدند[۱۹]. در مطالعه قاضی سعیدی و همکاران در ناحیه اهر در شمال ایران، میزان شیوع ایزوله‌های NTM در نمونه‌های محیطی به‌کمک روشهای فنوتیپیک ۱۸درصد گزارش شده است [۲۰]. در مطالعه قائمی و همکاران تعداد و انواع گونه‌های مایکوباکتریوم در نمونه‌های محیطی استان گلستان مورد بررسی قرار گرفت و شایع‌ترین گونه‌ها، مایکوباکتریوم فورچوئیتوم و م.فلاوسنس و م. چلونه گزارش شده است. در این مطالعه میزان فراوانی کشت‌های مثبت ۴۱/۴درصد بوده است[۲۱]. شین و همکاران تعداد ۱۵۰ نمونه از قسمتهای مختلف بیمارستان از جمله آب آشامیدنی را بررسی و میزان شیوع NTM در نمونه‌های آب آشامیدنی را ۵۰ درصد گزارش کرده‌اند [۹]. لذا باید در نظر داشت که وجود مایکوباکتریوم‌ها در آبهای لوله‌کشی، احتمال گزارش موارد مثبت کاذب باسیل‌های اسید فاست را در بیمارستان‌ها و مراکز تشخیص طبی نیز مطرح می سازد. لاوانیا و همکاران[1] ۶۹ نمونه خاک، ۶۲ نمونه آب آشامیدنی و ۳۱ مورد آب چشمه را بررسی و حضور NTM در نمونه‌ها را به ترتیب ۴۷/۸۲، ۲۰/۶۹ و ۱۹/۳۵ درصد گزارش کرده‌اند [۲۲].

جدا نشدن مایکو باکتریوم‌ها در این مطالعه از آبهای معدنی و نمونه‌های آب همودیالیز سطح بالاتری از بهداشت آب را صرف نظر از سایر شرایط مربوط به تهیه و بسته‌بندی این نوع آب آشامیدنی در کشور، در این نمونه‌ها نشان می‌دهد. هر چند به‌دلیل آلوده بودن آبهای لوله‌کشی سطح شهر، لزوم توجه ویژه به بهداشت دستگاههای همودیالیز، بیشتر مشخص می‌گردد. آلوده بودن استخرهای شنا و پوآرهای دندانپزشکی به NTM در شرایطی که استفاده از آنها به‌صورت گسترده، حتی برای بیماران با سیستم ایمنی تضعیف شده صورت می‌گیرد، لزوم رعایت بهداشت را در سطوح بالاتر یا ارائه تدابیر ویژه‌ای برای استفاده این گونه بیماران از امکانات درمانی یا عمومی مورد توجه قرار می دهد.

باید توجه داشت که اگرچه گونه‌های مایکو باکتریوم با آزمون‌های بیوشیمیایی و بارها تکرار این آزمایش‌ها قابل شناسایی هستند، اما تعدادی از خواص فنوتیپیکی با یکدیگر همپوشانی داشته و باعث ایجاد شبهه در تشخیص نهایی می‌شوند. علاوه بر این دو ایزوله که دو گونه مجزا از هم در نظر گرفته می‌شوند ممکن است زیر مجموعه‌های یک گونه در نظر گرفته شوند یا اینکه گاهی نتیجه چند آزمایش در یک گونه متغیر باشد [۱۷و۲۳]. در این مطالعه علی‌رغم تکرار تست‌های تشخیصی برای شناسایی ایزوله‌ها، در شناسایی ۳ ایزوله NTM موفقیت نهایی حاصل نشد که این به‌دلیل اختصاصیت کمتر از ۱۰۰ درصد شناسایی این گونه‌ها با استفاده از روشهای فنوتیپیک است. با این وجود، آزمون‌های فنوتیپی و بیوشیمیایی، قابل دسترس‌ترین راه برای تأیید گونه در تمام آزمایشگاه‌های میکرب شناسی روتین هستند.

۴- نتیجه‌گیری

با توجه به افزایش شیوع بیماری‌های نقص سیستم ایمنی در جامعه و فراخوانی گونه‌های مایکوباکتریوم در نمونه‌های محیطی از جمله منابع مختلف آب آشامیدنی و غیر آشامیدنی اصفهان، آگاهی از چگونگی پراکندگی این گونه‌ها در نواحی جغرافیایی مختلف به‌دلیل متفاوت بودن استراتژی درمانی آنها ضروری بوده و لازم است در کلینیک به‌طور جدی مورد توجه قرار گیرند.

[1] Lavania et al.

۵- مراجع

1- Horsburg, C. R. Jr. (1991). "Mycobacterium avium complex infection in the acquired immunodeficiency syndrome." *N.Engl.J.med*., 324, 1332-1338.

2- Peters, M. C., Muller, S., RuSch Gerdes, C., Seidel, U., Gobel, H. D., and Pohle and Ruf, B. (1995). "Isolation of atypical *mycobacteria* from tap water in hospitals and homes." *J. Infect*., 31, 39-44.

3- Covert, T. C., Rodgers, M.R., Reyes, A.L., and Stelema, G.N. (1999). "Occurrence of non tuberculous *mycobacteria* in environmental sample." *Appl. Environ Microbiol*, 68(6), 3159-3161.

4- Lin, C., Xue, C., Ting, Z.C., Huan, D.B., and Zhong, Z.J. (2006). "Identification of mycobacterium marinum 65KD heat shock protein gene by polymerase chain reaction analyses from lesion of swimming pool granuloma." *Chin. Med. Journal*, 119(1), 43-48.

5- Torvinen, E., and Suomalaine, S. (2004). "Mycobacteria in water and loose deposits of drinking water distribution system in Finland." *Appl. Enviro Microbiol*, 70(4), 1973-1981.

6- Groote, M.A.D., and Huitt, G. (2006). "Infections due to rapidly growing mycobacteria." *Clini. Infec. Dis*., 42, 1756-1763.

7- Black, W.C., and Berks, S.G. (2003). "Cooling towers a potential environmental source of slow growing mycobacteria species." *AIHAJ (Fair fax.Va)*, 64(2), 238-242.

8- Shin, J. H., Lee, E. J., Lee, H. R., Ryu, S. M., Kim, R. H., Chang, C. L., Kim, Y. J., and Lee, J. N. (2007). "Prevalence of non tuberculosis mycobacteria in a hospital environment." *J. Hosp. Infec.*, 65, 143- 148.

9- Kotoch, V.M. (2004). "Infections due to non-tuberculous mycobacteria (NTM)." *Indion J. med Res*., 120, 290-304.

10- Naserpour Farivar, T., and Sharifi, B. (2006). "Prevalence of non-tuberculousis mycobacteria in southeast of Iran." *16th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMI)*. France.

11- Taylor, R.H., Falkinham, J.O., Norton, C.D., and Lechevallier, M.W. (2000). "Chlorine, chloramine, chlorine dioxide, and ozone susceptibility of M.avium." *Appl. Environ. Microbiol*., 66, 1702-1705.

12- Schulze-Robbecke, R., Weber, A., and Fischeder, R. (1991). "Comparison of decontamination methods for the isolation of mycobacteria from drinking water samples." *J. Microbiol Methods*, 14, 177-183.

13-APHA. AWWA. and WEF. (1992). *Standard method for the examination of water and wastewater*, 18th Ed., American Public Health Association, American Water Works Association Environmental Federation, Washaangton. D.C., 1-21.

14- DPD. (1997). *National drinking water standards*, 5th Ed., Iranian Industrial Research and Standards Organization Publications, Standard no .1053, Tehran. (In Persian)

15- AWWA., and WEF. (1995). *Standard methods for the examination of water and wastewater*, 19th Ed., Washington, D.C.

16- Miyamoto, M., and Yamaguchi, Y. (2000). "Disinfectant effects of hot water, ultraviolet light, silver ions and chlorine on strains of *Legionella* and nontuberculous mycobacteria." *Microbios,* 101(398), 7-13.

17- Bailey and Scott, B., (1990). *Diagnostic microbiology, finegold*., 8th Ed., USA.

18- Ronald Masster, N. (1991). *Mycrobacteriology*, USA.

19- Rahbar, M., Lamei, A., Babazade, H., and Afshar Yavari, Sh. (2010). "Isolation of rapid growing mycobacteria from soil and water in Iran." *Afr. J. Biotechnol*., 9(24), 3618-3621

20- Ghazi Saiidi, K., Mohammadi, M., and Fatemi F.A. (1998). "Study of environmental mycobacterium from sediments of fish breeding pools northern Iran and its relationship with human skin diseases." *J. Infect. Dis*., 2, 22-25.

21- Ghaemi, E., Ghazisaeidi, K., Koohsari, H., Khodabakhshi, B., and Mansoorian, A. (2006). "Environmental mycobacteria in areas of high and low tuberculosis prevalence in the Islamic Republic of Iran." *Le Reuve De Santé de La Mediterranee Orientale*, 12(3/4), 280-285.

22- Lavania, M., Katoch, K., Parashar, D., Sharma, P., Das, R., Chauhan, D.S., Sharma, V.D., and Katoch, V.M. (2008). "Predominance of mycobacterium fortuitum-chelonae complex in Ghatampur field area, Endemic for Leprosy." *Indian J. Lepr*, 80, 323- 330.

23- Nasr Isfahani, B., Bahadoran M., Esmi, J., Hoseini, N., Tavakoli, A., Javadi, A., and Narimani, T. (2010). *Tuberculosi, genetic, control and management, diagnosis, drug resistance and treatment*, Isfahan University of Medical Sciences Press, Isfahan.