مقاله پژوهشی

مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز

دوره ۳۴ شماره ۳ مرداد و شهریور ۱۳۹۱ صفحات ۱۰۰- ۹۶

شیوع مقاومت اولیه به داروهای ضد سل و ارتباط آن با سرعت منفی شدن خلط دربیماران سل ریوی اسمیر مثبت

رضا قره محمدلو: مرکز تحقیقات سل و بیماریهای ریوی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران، نویسنده رابط: **E-mail**: r_gmlo@yahoo.com

سید رضا مودب: مرکز تحقیقات سل و بیماریهای ریوی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

علی تقی زادیه: مرکز تحقیقات سل و بیماریهای ریوی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

دریافت: ۸۹/۴/۸ **پذیرش**: ۸۹/۶/۸

چکیده

زمینه و اهداف: شیوع مقاومت داروئی در بیماری سل یک نگرانی عمده بهداشتی در جهان می باشد. این امر ممکن است باعث تأخیر در منفی شدن خلط بیماران اسمیر مثبت گردد. هدف از این مطالعه، بررسی بیماران اسمیر مثبت و تأثیر مقاومت احتمالی داروئی درسرعت منفی شدن خلط می باشد.

مواد و روش‌ها: در یک مطالعه آینده نگر به مدت ۲ سال (سال‌های ۱۳۸۶-۱۳۸۵) کلیه بیماران با سل ریوی اسمیر مثبت (۹۰ مورد) در مرکز سل و بیماریهای ریوی تبریز مورد مطالعه قرار گرفتند. خلط بیماران (هم اسمیر و هم کشت) در شروع درمان، پانزدهمین روز و سپس ماهانه به مدت شش ماه پس از شروع درمان استاندارد چهار داروئی (ایزونیازید-ریفامپین-اتامبوتول-پیرازینامید) بررسی شده و نتایج حاصله مورد آنالیز واقع گردید. بررسی مقاومت دارویی در محیط کشت لونشتاین جانسون با روش نسبی صورت گرفته است.

یافته‌ها: در مجموع تعداد ۹۰ بیمار (۴۳ زن-۴۷ مرد) وارد مطالعه شدند. متوسط زمان منفی شدن اسمیر یک و نیم ماه و منفی شدن کشت یک ماه بود. یک مورد مقاوم به داروهای ایزونیازید و ریفامپین و استرپتومایسین وجود داشت که پس از ۶ ماه داروهای رده دوم برای وی شروع شد. در تعداد ۴ مورد دیگر، اسمیر آنها تا ۶ ماه مثبت باقی ماند ولی کشت منفی بود. پس از ماه ۷ اسمیر آنها منفی شد.

نتیجه‌گیری: در طی ۲ سال صرفاً یک مورد مقاومت چند دارویی تشخیص داده شد و میزان مقاومت در شهرستان تبریز پایین است و به همین جهت سرعت منفی شدن خلط در بیماران در سطح مورد انتظار می‌باشد. معضل مقاومت دارویی در جهان و امکان تشخیص در کشورمان، ضرورت بیماریابی و درمان مناسب را جهت بهبود وضع موجود نشان می دهد.

کلید واژه‌ها: سل ، اسمیر مثبت، مقاومت دارویی

مقدمه

بیماری سل یکی از مسائل عمده جهانی می باشد. بر اساس گزارش های سازمان بهداشت جهانی حدود ۲۲٪ از افراد جامعه در ناحیه خاورمیانه و شمال آفریقا آلوده به باسیل سل هستند (۲-۱). مقاومت دارویی یکی از مهمترین عوامل شکست درمان و افزایش مرگ و میر است و از همه مهمتر شیوع بیشتر این ارگانیسم ها در جامعه می‌باشد. مقاومت به داروهای رده اول (ایزونیازید، ریفامپین، اتامبوتول، پیرازینامید) و استفاده از داروهای رده دوم باعث شکست درمانی در حدود ۵۰٪ موارد شده و هزینه درمان را، ۱۴ تا ۲۹ بار افزایش می‌دهد (۳). با توجه به همسایگی منطقه ما با کشورهای استقلال یافته از شوروی سابق و شیوع بالای سل مقاوم به دارو در این کشورها، و با توجه به مراودات روز افزون این کشورها با مناطق شمالی کشورمان، لزوم بررسی و پیگیری هر چه بیشتر، بیماریابی و درمان به موقع، و شناسایی گونه های مقاوم برای درمان مناسب بیش از پیش احساس می شود. هدف از انجام این مطالعه، یافتن سویه‌های مقاوم به داروهای رده اول سل در شهرستان تبریز و بررسی ارتباط احتمالی آن با سرعت منفی شدن خلط (که مهمترین عامل در جلوگیری از انتشار بیماری می باشد) بوده است.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه آینده‌نگر، کلیه بیمارانی که با تشخیص سل اسمیر مثبت در سالهای ۱۳۸۵ و ۱۳۸۶ در مرکز مبارزه با سل و

بیماری‌های ریوی تبریز تحت درمان قرار گرفته بودند مورد بررسی واقع شده اند. خلط این بیماران چه به صورت خود به خودی و چه به صورت تحریکی (با نرمال سالین) در روزهای صفر (قبل از شروع درمان) روز پانزدهم، ماه اول، ماه دوم، ماه سوم، ماه چهارم، ماه پنجم و ماه ششم پس از شروع درمان بررسی شد. تمام بیماران تحت درمان استاندارد چهار دارویی ایزونیازید، ریفامپین، اتامبوتول، پیرازینامید به مدت ۲ ماه و ادامه درمان با ایزونیازید و ریفامپین به مدت ۴ ماه قرار گرفتند. اسمیر خلط بیماران در زمان های فوق با رنگ‌آمیزی ذیل–نلسون بررسی شده و در ضمن کشت و آنتی بیوگرام با داروهای رده اول ضد سل (اتامبوتول، ریفامپین، ایزونیازید) در محیط کشت Lowenstein – Jensen با روش نسبی در تمام نمونه‌ها انجام شد و اطلاعات به دست آمده توسط برنامه آماری SPSS تجزیه و تحلیل گردید. جهت تحلیل وضعیت تغییر اسمیر و کشت بیماران در طی دوره درمان ۶ ماهه به ترتیب از آزمون های فریدمن (Friedman) و کوکران Cochran –Q استفاده شد. جهت بررسی همبستگی بین روند تغییر در اسمیر و کشت بیماران در طی یک دوره ۶ ماهه درمان نیز از آزمون همبستگی پیرسون استفاده شد.

یافته‌ها

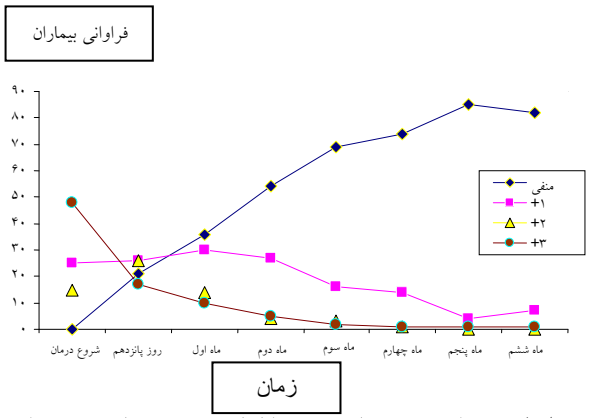
در مجموع در طی دو سال مورد نظر به تعداد ۹۰ بیمار با تشخیص سل اسمیر مثبت که برای بار اول تشخیص داده شده بود وارد مطالعه شدند. ۴۳ نفر (۴۷/۸٪) از بیماران زن و ۴۷ نفر (۵۲/۲٪) مرد بودند. میانگین سنی بیماران ۵۱/۸۹ سال (با حدود اطمینان ۹۵٪: ۷۰/۳۴–۳۳/۴) در مردان و ۱۲/ ۵۰ سال (با حدود اطمینان ۹۵٪ ۷۰/۴–۲۹/۸۴) در زنان بود. نمودار شماره ۱ روند تغییر وضعیت اسمیر را در طی یک دوره ۶ ماهه (۸ مقطع زمانی: شروع درمان، ۱۵ روز پس از درمان، یکماه پس از درمان و پس از آن تا پایان ماه ششم به طور ماهانه) نشان می‌دهد. فراوانی بیماران اسمیر مثبت ۱، ۲ و ۳ در شروع درمان (مقطع زمانی صفر) به ترتیب ۲۶(۲۷/۹٪)، ۱۵(۱۶/۷٪) و ۴۹(۵۴/۴٪) نفر بودند. با توجه به نمودار شماره ۱ فراوانی بیماران با سل ریوی اسمیر +۳،+۲ و +۱ با شروع درمان روند کاهشی قابل توجهی داشته است به طوری که در طی ماه سوم پس از شروع درمان نزدیک به صفر رسیده است. میانه منفی شدن اسمیر در بیماران ۱/۵ ماه (با خطای معیار ۴/٪) و متوسط منفی شدن اسمیر در بین بیماران ۱/۹ ماه (با خطای معیار ۳۳/٪) بود. با توجه به نمودار شماره ۲تعداد ۸۴ نفر از بیماران با اسمیر مثبت (۹۳/۳٪) در شروع درمان (مقطع زمانی صفر) دارای کشت مثبت بوده اند که در طی ماه دوم پس از شروع درمان تعداد بیماران با کشت مثبت به ۶ نفر(۶/۷٪) رسیده بود. میانه منفی شدن خلط در بیماران ۱۵ روز (با خطای معیار ۷/٪) و متوسط منفی شدن خلط ۲۰ روز (با خطای معیار ۹/٪) بود.

به منظور تحلیل تغییر وضعیت اسمیر در بیماران در طی دوره درمان ۶ ماهه (در ۸ مقطع زمانی صفر، روز ۱۵، ماه ۱، ماه۲، ماه۳، ماه۴، ماه ۵، ماه۶) از آزمون فریدمن استفاده شد. بر این اساس رابطه آماری معنی داری بین ادامه درمان (روند زمان) و روند منفی شدن اسمیر مشاهده شد (X^2= ۴۰۴ و P<۰/۰۰۰۱). با تحلیل بیشتر، جهت شناسایی موقعیت اختلافهای معنی دار در بین ۸ مقطع زمانی، به غیر از مقطع زمانی ۷ (ماه۵) با مقطع زمانی ۸(ماه ۶) بقیه مقاطع زمانی با هم معنی دار بودند (P<۰/۰۰۰۱). با بررسی تاثیر جنسیت بر روی روند منفی شدن اسمیر در بیماران، با استفاده از روش محدودسازی، منفی شدن اسمیر در زمانهای مختلف در هر دو جنسیت به تفکیک یکسان بوده و اختلاف معنی‌داری بین آنها مشاهده نشد.

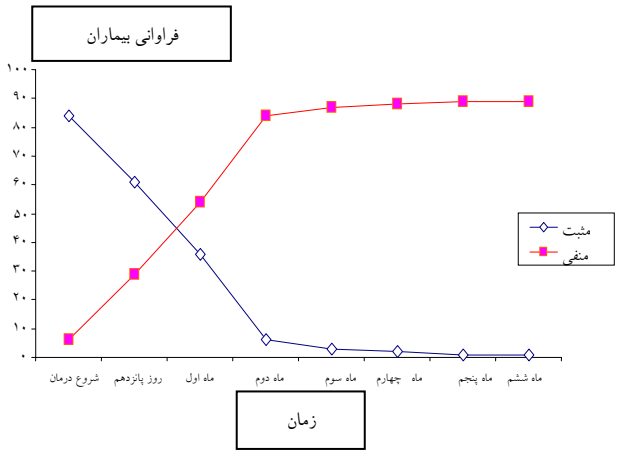
به منظور تحلیل تغییر وضعیت کشت در بیماران در طی دوره درمان ۶ ماهه (در ۸ مقطع زمانی صفر، روز ۱۵، ماه ۱، ماه۲، ماه۳، ماه۴، ماه ۵، ماه۶) از آزمون کوکران استفاده شد. بر این اساس رابطه آماری معنی داری بین ادامه درمان(روند زمان) و روند منفی شدن کشت مشاهده شد (C= ۲۷۱ و P<۰/۰۰۰۱). با تحلیل بیشتر جهت شناسایی موقعیت اختلاف معنی دار در بین ۸ مقطع زمانی، به غیر از مقطع زمانی ۷ (ماه ۵) با مقطع زمانی ۸ (ماه ۶) بقیه مقاطع زمانی با هم معنی‌دار باقیماندند (P<۰/۰۰۰۱). با بررسی تاثیر جنسیت بر روی روند منفی شدن کشت در بیماران، با استفاده از روش محدود سازی، منفی شدن کشت در زمانهای مختلف در هر دو جنسیت به تفکیک یکسان بوده و اختلاف معنی داری بین آنها نبوده است.

با بررسی ارتباط بین توزیع سن (کمتر از ۴۰ سال و برابر– بزگتر از ۴۰ سال) و روند منفی شدن اسمیر و کشت (با استفاده از روش محدود سازی) هیچ اختلاف معنی داری بین توزیع سن و روند منفی شدن اسمیر یا منفی شدن کشت مشاهده نشد.

نتایج تحلیل همبستگی بین روند منفی شدن کشت و اسمیر در بیماران در طی ۶ ماه دوره درمان بدین ترتیب بود: به غیر از مقاطع زمانی ۵ و ۶ در بقیه مقاطع زمانی (۰ و ۰/۵ و ۱.۲.۳.۴) همبستگی معنی داری بین روند منفی شدن اسمیر و کشت وجود داشت (P<۰/۰۵). لازم به ذکر است در بررسی همبستگی بین اسمیر و کشت فقط مقاطع زمانی یکسان با هم مقایسه شدند.



نمودار ۱: روند زمانی منفی شدن اسمیر در بیماران اسمیر مثبت پس از شروع درمان استاندارد دارویی



نمودار ۲: روند زمانی منفی شدن کشت در بیماران اسمیر مثبت پس از شروع درمان استاندارد دارویی

بحث

منفی شدن خلط در بیماران مبتلا به سل ریوی اسمیر مثبت ارتباط مستقیمی با حساسیت سویه‌های مایکوباکتریوم توبرکولوزیس به داروهای تجویز شده دارد. Hobby و همکاران دریافتند که به طور متوسط پس از ۱۵/۶ روز از شروع درمان چند دارویی، تعداد باسیل‌های سل در خلط بیمار حداقل ۲ لگاریتم کاهش می‌یابد (۴). Jindani و همکاران نشان دادند که این میزان کاهش در ۲ روز اول شروع درمان با رژیم درمانی حاوی ایزونیازید اتفاق می افتد و در طی ۲ هفته بعدی یک لگاریتم دیگر از جمعیت باسیل سل در خلط بیمار کاهش می یابد که به منزله کاهش ۹۹/۹٪ در مقدار باسیل ها می باشد (۵). با این حال در مواردی که باسیل سل به یک یا چند تا ازاین داروهای ضد سل مقاوم باشد سرعت منفی شدن خلط آهسته تر بوده و بنابراین بیماران مذکور به مدت طولانی تری به صورت آلوده کننده باقی می مانند (۸-۶).

سویه ای هست که باسیل حداقل به ایزونیازید و ریفامپین مقاوم است (۹). سل مقاوم عمدتا" به دو طریق ایجاد می شود: همچنین مطالعات نشان داده است که هر چه مقاومت دارویی گسترش می‌یابد سرعت منفی شدن نمونه بیمار نیز، مدت زمان بیشتری را می‌طلبد. چنانچه در ایالات متحده آمریکا نشان داده شده است، مدت زمان منفی شدن اسمیر در موارد سل فوق مقاوم به دارو (XDR) مدت زمان منفی شدن بیشتر از مواردی است که باکتری سل (Multi Drug Resistant MDR) به چند داروی رده اول مقاوم است (MDR).

(Extensively Drug-resistant tuberculosis XDR) به مواردی اطلاق می شود که باسیل علاوه بر داروهای رده اول حداقل به یکی از داروهای گروه کینولون و همچنین آمینوگلیکوزیدهای رده دوم مقاوم شده باشد. فاکتورهای متعدد دیگری، غیر از مقاومت دارویی، در خصوص تأخیر در منفی شدن اسمیر بیماران مورد اشاره و تحقیق قرار گرفته است که از این عوامل می توان به سن، شدت بیماری، ابتلا به بیماری دیابت، مدت زمان سیگاری بودن، حتی تعداد پلاکتهای خون اشاره نمود. در مطالعات نشان داده شده است که سن بالا، جنس مذکر، سیگاری بودن و همچنین ترمبوسیتوز ارتباط با تأخیر در منفی شدن اسمیر در بعضی از بیماران مبتلا به سل داشته است (۱۰). Telzak و همکاران (۱۱) مهمترین عامل در تأخیر در ارتباط شدت یافته‌های رادیولوژیک گزارش کرده اند. این در حالی است که در تحقیق دیگر تعداد باسیل های تشخیص داده شده در ابتدای بیماری را در ارتباط با منفی شدن اسمیر بعد از درمان دانسته‌اند، هر چه تعداد باسیل ابتدای تشخیص بیشتر بوده است مدت زمان منفی شدن اسمیر این بیماران با تأخیر اتفاق افتاده است (۱۲). مطالعات Holtz و همکاران (۱۳) نشان داده است که در بین بیماران مقاوم به دارو (MDR-TB) حداقل زمان برای منفی شدن اسمیر این بیماران، بیش از دو برابر بیماران مبتلا به سل حساس به دارو می‌باشد. همچنین این مطالعه نشان داده است که به ازای مقاوم شدن باسیل به یک داروی دیگر، میزان مدت زمان منفی شدن اسمیر بیمار نیز بین ۳ الی ۳۰٪ به تأخیر می افتد. و همچنین درگیری دو طرفه شش ها و بالا بودن تعداد باسیلهای تشخیصی کلنی های رشد کرده در محیط کشت این بیماران مقاوم به دارو دو عامل مهم در تأخیر منفی شدن اسمیر این بیماران بوده است. آنالیز فاکتورهای متعدد دخیل در تأخیر مدت زمان منفی شدن اسمیر بیماران مبتلا به سل نشان می دهد که مقاوم شدن باسیل به دارو مهمترین عامل این تأخیر است و لذا تشخیص سریع مقاومت دارویی و پیگیری‌های لازم مهمترین عامل کنترل سل مقاوم به درمان است.

۱) آلودگی اولیه با باسیل های مقاوم ۲) پیدایش مقاومت دارویی در حین درمان

مطالعات تجربی نشان داده اند که میزان بروز موتاسیون های مقاوم ۱ مورد در هر $۳/۵ \times ۱۰^{۵}$ برای ایزونیازید، ۱ مورد در $۳/۸ \times ۱۰^{۶}$ استرپتومایسین و ۱ در $۳/۱ \times ۱۰^{۸}$ ریفامپین و ۱در $۰/۵ \times ۱۰^{۴}$ برای اتامبوتول می باشد. با توجه به جمعیت بالای باسیل در ضایعات ریوی، وجود مقاومت به هر یک از داروهای خط اول به خصوص ایزونیازید و ریفامپین باعث پیدایش سویه‌های مقاوم حین درمان و در نتیجه شکست درمانی و احتمال بالای آلودگی کنندگی می‌شود. مقاومت به ایزونیازید علت عمده تاخیر در منفی شدن خلط بیماران مبتلا به سل ریوی می باشد. این دارو در واقع به صورت پیش دارو بوده پس از فعال شدن آنزیم کاتالاز_پراکسید در بیوسنتز مایکولیک اسید که جزء مهم دیواره سلولی مایکوباکتریوم توبرکولوزیس است، ایجاد اختلال می کند. عدم فعالیت آنزیم کاتالاز در نتیجه جهش این آنزیم مسئول حدود ۵۰٪ از موارد مقاومت به ایزونیازید می باشد. موتاسیون در ژن inh A که تولید enoyl-Acp-reductase را کد می کند و این آنزیم در بیوسنتزمایکولیک اسید دخیل است، مسئول حدود ۲۵٪ از موارد مقاومت به ایزونیازید می باشد که اغلب بصورت مقاومت سطح

پایین می باشد. جهش در ahpC در حدود ۱۰–۱۵٪ موارد مشاهده می شود که ممکن است رابطه علی با مقاومت نداشته باشد. سایر جهش‌های غیرشایع که مسئول حدود ۱۰٪از موارد مقاومت می باشد شامل kas A ,Ceo A می‌باشند. ریفامپین با طیف آنتی بیوتیکی وسیع خود از طریق مهار سنتز mRNA بواسطه اتصال RNA polymerase عمل می‌کند. موتاسیون در ژن RNA polymerase زیر واحد B (rpoB) مسئول بیش از ۹۷٪ از موارد نمونه‌های مقاوم بالینی می باشد. اتامبوتول به صورت اختصاصی از بیوسنتز دیواره سلولی مایکوباکتریوم جلوگیری می کند. مقاومت به اتامبوتول به علت جهش در ناحیه ژنومی مسئول (emb CAB) در حدود ۶۵٪ از موارد نمونه‌های بالینی دیده شده و مسئول مقاومت سطح بالا می‌باشد.

مقاومت به استرپتومایسین به علت جهش در ناحیه rpsl است که سنتز پروتئین S12 ریبوزومی را کد می‌کند. علاوه بر این حلقه هایی که از SRrna۱۶ که با پروتئین S12 واکنش می کنند دومین نقطه مهم جهش می باشد. این دو به ترتیب مسئول ۵۰ و ۲۰٪ از سویه‌های مقاوم می باشند (۲۰–۵) (که مطالعات انجام شده در مرکز تحقیقات سل و بیماریهای ریوی تبریز موید آن است) در طی ۲ سال بررسی در نمونه های مرکز مبارزه با سل تبریز فقط یک مورد مقاومت به ایزونیازید و ریفامپین و استرپتومایسین گزارش شد که تحت درمان با داروهای رده دوم قرار گرفتند. تعداد ۴ نفر دیگر علیرغم اینکه تا پایان ماه ششم اسمیر خلط آنها مثبت باقی ماند ولی کشت آنها از ماه دوم منفی بود. و پیگیری خلط آنها نیز منفی شد. این مطالعه نشان می‌دهد که میزان شیوع سل مقاوم به داروهای ضد سل در منطقه تبریز در حد بسیار پایینی قرار دارد و این امر به علت بیماریابی به موقع و درمان مناسب این بیماران می باشد ولی از طرف دیگر با توجه شیوع بالای سل مقاوم به دارو در جمهوری آذربایجان و نخجوان (که مطالعات انجام شده در مرکز تحقیقات سل و بیماریهای ریوی تبریز موید آن است) و مشکلات موجود در بیماریابی و درمان بیماران در آن منطقه و با توجه به تردد روز افزون ساکنین این نواحی به کشورمان، ضروری است امر بیماریابی و درمان مناسب کماکان ادامه یابد. از طرفی با توجه به مطالعات گسترده انجام شده در خصوص تأثیر عوامل مختلف در مدت زمان منفی‌شدن اسمیر بیماران مانند سن به ابتلا به دیابت، شدت بیماری، تعداد باسیلهای تشخیصی و کلنی‌های رشد در کشت ادامه شدت بیماری پیش از ۳ ماه پارامترهای خونی مانند تعداد پلاکتها (۱۴–۹) مطالعات گسترده در ارتباط با این عوامل پیشنهاد می شود.

نتیجه‌گیری

میزان مقاومت داروئی (یک مورد در طی ۲ سال) در شهر تبریز خیلی پائین می‌باشد و به همین جهت سرعت منفی شدن خلط در بیماران در حد مورد انتظار می‌باشد. این در حالی است که مدت زمان منفی شدن اسمیر در بیمار مقاوم به دارو، به طول می‌انجامد که خود اهمیت تشخیص سریع در این سل مقاوم را نشان می‌دهد. این ضرورت پیگیری هر چه بیشتر امر بیماریابی و درمان مناسب را جهت حفظ و بهبود وضع موجود نشان می دهد.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از همکاران پزشک و آزمایشگاه مایکوباکتریولوژی مرکز تحقیقات سل و بیماریهای روی تبریز که ما را در پیگیری بیماران و انجام آزمایشها در طرح تحقیقاتی یاری کرده اند، تشکر می نماید.

References

1. World Health Organization: global Tuberculosis control: Surveillance, planning, and Financing, WHO Report 2004 (WHO/HTM/TB/2004.331) Geneva: World Health Organization, 2004.
2. Dye C, Scheele S, Dolin P, Pathania V, Raviglione MC. Consensus statement. Global burden of tuberculosis: Estimated incidence, prevalence, and mortality by country. WHO Global Surveillance and Monitoring Project. *JAMA* 1999; **282**: 677-686.
3. Mohammadi A, Nassor ZS, Behlim T, Mohammadi E, Govindarajan R, Al Maniri A. Epidemiological and cost analysis of multidrug-resistant tuberculosis in Oman: *East Mediterr Health J* 2008; **14**(6): 1240-1245.
4. Gladys L, Hobby, Audrey P, Holman, Michael D. Enumeration of tubercle bacilli in sputum of patients with pulmonary tuberculosis. *Antimicrobial Agents Chemotherapy* 1973; **4**: 94-104.
5. Jindani A, Aber VR, Edwards EA. The early bactericidal activity of drugs in patients with pulmonary tuberculosis. *Am Rev Respir Dis* 1980; **121**: 939-949.
6. David HL. Probability distribution of drug-resistant mutants in unselected population of mycobacterium tuberculosis. AppI Microbiol 1970; **20**: 810-814.
7. Springett VH. Ten-year results during the introduction of chemotherapy for tuberculosis. *Tubercle* 1971; **52**(2): 73-78.
8. Denis A. Mitchison: The Diagnosis and therapy of Tuberculosis during the Past 100 Years: *Am J Respir Crit Care Med* 2005; **171**(7): 699-706.
9. Sarita NS, Prats R, Armstroug L, Robison V, Gostro K, Gegnelski JP. Extensively Drug-Resistant tuberculosis in the United States, 1993-2007. *JAMA* 2008; **300**(18): 2153-2160.
10. Singla R, Osman MM, Khan N, Al-Sharif N, Al-Sayegh MO, Shaikh MA. Factors predicting persistent

sputum smear positiving among pulmonary tuberculosis pathents 2 months after treatment. *Int J tuber Dis* 2003; **7**: 58-64.
11. Elzak EE, Fazal BA, Pollardcs Turett GS, Justman Jc, Blum S. Factors influencing time to sputum conversion among patients with smear positive pulmonary tuberculosis. *Clin infect Dis* 1997; **25**: 666-670.
12. Lienhardt C, Manneh K, Bouchier V, Lahai G, Milligan PJ, McAdam KP. Factors determining the outcome of treatment of adult smear, positive tuberculosis cases in the Gambia. *Int J Tubere lung Dis* 1998; **2**: 712-718.
13. Holtz TH, Sternberg M, Kamnener S, Laserson KF, Riek Stina V. Time to sputum culture conversion in Multidrug-Resistant Tuberculosis: Predictors and Relanonship to treatment outcome. *Ann Intern Med* 2006; **144**: 650-659.
14. Fortun J, Martin-Dauls P, Molins A, Navas E, Hermida JM, Cob J. Sputum conversion among patients with pulmonary tuberculosis: are there implications for removal of respiratory isolation.
15. Drobniewski F, Eltringham I, Graham C, Magee JG, Smith EG, Watt B. A national study of clinical and laboratory factors affecting the survival of patients with multiple drug resistant tuberculosis in the UK. *Thorax* 2002; **57**(9): 810-816.
16. Leff DR, Leff AR. Tuberculosis Control Policies in Major Metropolitan Health Departments in the United States: VI. Standard of Practice in 1996. *J Crit Care Med* 1997; **156**: 1487–1494.
17. Wallis RS, Perkins MD, Phillips M, Joloba M, Namale A, Johnson AL. Predicting the Outcome of Therapy for Pulmonary Tuberculosis. *Am J Respir, Crit Care Med* 2000; **161**(4): 1076-1080.
18. Chan ED, Laurel V, Strand M, Chan JF, Huynh MLN, Goble M. Treatment and Outcome Analysis of 205 Patient with Multidrug- resistant Tuberculosis: *Am J Crit Care Med* 2004; **169**: 1103-1109.
19. Daley CL. Transmission of Multidrug-Resistant Tuberculosis. *Am J Crit Care Med* 2002; **165**: 742-743.
20. Telenti A. Genetics of drug resistant tuberculosis. *Thorax* 1998; **53**: 793-797.