

پیلی در باکتری های گرم منفی، گرم مثبت و باکتری مایکوباکتریوم توبرکلوزیس

زهرا نصیرزاده^۱، پریسا فرنیا^{۲*}، جمیله نوروزی^۱، پوپک فرنیا^۳، علی اکبر ولایتی^۲

- (۱) گروه میکروب شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شمال تهران، تهران، ایران
(۲) مرکز تحقیقات مایکوباکتریولوژی (MRC)، انستیتوی تحقیقات ملی سل و بیماری ریه (NRITLD)، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
(۳) گروه بیوتکنولوژی، دانشکده فناوری پیشرفته پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

چکیده:

بسیاری از گونه های باکتریایی دارای ساختارهای رشته ای طولانی هستند که به عنوان pili یا fimbriae از سطح آنها گسترش می یابد. برخی از پیلی ها همچنین در تشکیل بیوفیلم، انتقال فاژ، جذب DNA و شکل خاصی از حرکت سلول های باکتریایی نقش دارند، که به عنوان twitching motility شناخته می شود. در این بررسی مروری بر ساختار، مونتاژ و عملکرد پیلی باکتری های گرم منفی و گرم مثبت شده است.

* نویسنده مسئول:

دکتر پریسا فرنیا، مرکز تحقیقات مایکوباکتریولوژی (MRC)، انستیتوی تحقیقات ملی سل و بیماری ریه (NRITLD)، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران، پست الکترونیک: pfarnia@hotmail.com

مقدمه:

باکتری‌های بیماری‌زا باید به عنوان گام تعیین کننده در ایجاد عفونت، به سلول‌های میزبان خاص متصل شوند. این روش برای کلونیزاسیون بافت میزبان ضروری است (۱). اندرسون و هووینک به طور مستقل در سال ۱۹۴۹ مشاهده زائده‌های رشته‌ای متمایز متفاوت از تاژک شناخته شده را گزارش دادند. از آن زمان، تعداد زیادی از نشریات درباره خصوصیات مختلف این ساختارها منتشر شده است (۲-۳).

پیلی فاکتورهای مهم بیماری‌زایی برای چندین بیماری، به ویژه عفونت‌های دستگاه ادراری، دستگاه گوارش است *Pili*. همچنین به عنوان اهداف مهم برای تولید واکسن در نظر گرفته می‌شود. اگرچه *pili* اغلب به عنوان اندامک‌های چسبی توصیف می‌شود، اما در عملکردهای دیگر مانند اتصال فاز، انتقال DNA، تشکیل بیوفیلم، تجمع سلول، حمله سلول میزبان و تحرک چرخشی نقش دارند. در حالی که پیلی در باکتری‌های گرم منفی طی چندین دهه به طور گسترده مورد بررسی قرار گرفته است، پیلی موجود در باکتری‌های گرم مثبت به تازگی کشف شده است (۴-۵).

بخش عمده‌ای از مطالعات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و ژنتیکی بر روی زائده‌های باکتریایی *nonflagellar* توسط گروه‌های تحقیقاتی برینتون، دوگوئید، ماکاکارو و مینل انجام شده است. از زمان کشف آنها توسط اندرسون و هووینک، بعداً به این ضمایم "filaments"، "bristles"، "fimbriae"، or "pili" گفته شد (2-3-7-8).

درک نقش *Pili* باکتریایی در پاتوژنز ممکن است راهی برای آزمایش‌های جدید، دقیق تشخیصی، چشم اندازه‌های درمانی و اقدامات پیشگیرانه برای چندین بیماری باکتریایی فراهم کند (۹).

تفاوت بین پیلی و فلاژلا:

تاژک در یک انتها زائده‌های نازک و بلندی دارند و در انتهای دیگر به سلول متصل می‌شوند. تاژک در واقع از قسمت داخلی بدن سلول گسترش می‌یابد. آنها بیشتر از پروتئین فلاژلین تشکیل شده‌اند. پیلی موهای صاف و کوتاه و ضخیمی مانند زائده‌های سطحی است. آنها در

باکتری‌های گرم منفی یافت می‌شوند. آنها بیشتر از پروتئین پیلین تشکیل شده‌اند (جدول ۱).

پیلی در باکتری‌های گرم منفی:

پیلی در باکتری‌های گرم منفی به ۵ کلاس اصلی تقسیم شده:

Chaperone-usher pathway: در تمام خانواده‌های *Escherichia coli* و *Enterobacteriaceae* یافت می‌شود.

ساختارهای چسبنده هتروپلیمری هستند که از تعداد کمی زیر واحد پروتئین مختلف در استوکئومتری‌های مختلف تشکیل شده‌اند (۱۰-۱۱).

گروه دیگری از ساختارهای چسبنده این گروه چسبنده‌های غیر پیلوس است. ساختارهای چسبنده به طور کلی هموپلیمرهایی هستند که از یک زیر واحد پروتئین تشکیل شده‌اند، مانند خانواده چسبنده‌های *Afa / Dr* باکتری *E. coli* و آنتی ژن کپسولی پلیمری *F1 Yersinia pestis* (۱۲-۱۳-۱۴).

Type I pili

ساختار نوع ۱ *pilus* در سال ۱۹۶۹ توسط برینتون تعیین شد، وی از میکروسکوپ الکترونی، کریستالوگرافی و پراش اشعه X استفاده کرد (۱۵). نوع *pili I* در اکثر سویه‌های *E. coli* و در کل خانواده

Enterobacteriaceae یافت می‌شود. آنها شایع‌ترین نوع پیلوس در *UPEC* هستند، جایی که به طور قابل توجهی به عفونت مثانه (سیستیت) کمک می‌کنند. نوع *pili I* علاوه بر خاصیت چسبندگی، در تشکیل بیوفیلم نیز نقش دارد (۱۶).

Type IV pili

اصطلاح *Type IV pilus* در اصل توسط *Ottow*، در سال ۱۹۷۵ ابداع شد (۱۷). اگرچه به طور عمده در طیف وسیعی از باکتری‌های گرم منفی، از جمله *E. coli* انتروتوژنیک (*EPEC*)، *سالمونلا انتریکا*، *سودوموناس*، منتریتیدیس و *ویبریو کلرا* یافت می‌شود (۱۸-۱۹).

pili نوع IV نیز در دو جنس گرم مثبت *Clostridia* و *Ruminococcus* و در *Cyanobacteria* کشف شده است (۲۰).

پیلی نوع IV علاوه بر تشکیل بیوفیلم دارای تعدادی از ویژگی‌های منحصر به فرد است، از جمله جذب DNA

استرپتوکوکهای بیماریزا، مانند *S. pneumoniae*،
S. agalactiae و *S. pyogenes* (۲۸).

پیلی در مایکوباکتریوم توبرکلوزیس:

بیماری سل (توبرکلوزیس)، بیماری عفونی باکتریایی است که توسط باکتری میله ای صاف و یا اندکی خمیده (با درازای ۱ تا ۴ میکرومتر و پهنای ۰/۴-۰/۳ میکرومتر) بدون اسپور و هوازی اجباری به نام مایکوباکتریوم توبرکلوزیس (*Mtb*) ایجاد میشود (29-30). این باکتری توسط رابرت کخ در سال 1881 از کشت نمونه ای که از یک گرانولوم به دست آمده بود، کشف شد (31).

این باکتری به دلیل داشتن مقدار زیادی چربی در دیواره سلولی نمی تواند هیچ نوع رنگ باکتربلوژیکی را در خود نگه دارد، به همین دلیل این باکتری نه گرم منفی و نه گرم مثبت است، از این رو از رنگ آمیزی اسیدفاست استفاده می شود. دیواره سلولی غیرعادی این باکتری که غنی از چربی مانند اسید مایکولیک است، مسئول مقاومت باکتری است. این باسیل از باکتریهای کند رشد محسوب میشود، به طوری که تقسیم آنها ۱۲ تا ۲۴ ساعت طول کشیده و ۲۱ روز برای ایجاد کلنی در محیط کشت زمان نیاز دارند (31).

M. tuberculosis توسط ذرات معلق در هوا به نام هسته قطره (با قطر ۱-۵ میکرون) حمل می شود. هسته های قطره ای عفونی هنگام ایجاد سرفه، عطسه، فریاد یا آواز خواندن، ایجاد می شود. *M. tuberculosis* و هفت گونه مایکوباکتریایی بسیار نزدیک *M. bovis*، *M. africanum*، *M. microti*، *M. caprae*، *M. pinnipedii* و *M. mungi* در کنار هم شامل مواردی است که به عنوان *M. tuberculosis complex* شناخته می شود.

ممکن است سه حالت برای فردی که با مایکوباکتریوم توبرکلوزیس آلوده شده ایجاد شود، ۱- باکتری به سرعت توسط سیستم ایمنی میزبان از بین می رود. ۲- باکتری می تواند در زمان محدود زنده بماند و عامل بیماری سل فعال باشد (۱ تا ۳ سال). ۳- و یا می تواند به صورت dormant (خواب) برای سالها بدون هیچ علائم بیماری سل، که عفونت توبرکلوزیس latent نامیده می شود، باقی بماند هر شخصی که به عفونت توبرکلوزیس latent آلوده

در هنگام تبدیل، انتقال فاز و یک شکل حرکت مستقل از تاژک که به عنوان تحرک چرخشی شناخته می شود.

: Curli pili

کرلی برای اولین بار در سال ۱۹۸۹ به عنوان الیاف پیچیده پروتئینی موجود در باکتریهای روده ای مانند *E. coli* و *Salmonella spp* توصیف شد (۲۱).

آنها از تکرار زیرواحدهای اصلی pilin CsgA یا curlin تشکیل شده اند که فاقد همسانی ساختاری با هر پروتئین دیگر شناخته شده pilin است. جالب توجه است که کرلی دارای برخی از خصوصیات بیوشیمیایی و ساختاری با فیبرهای آمیلوئید یوکاریوتی است که در برخی از بیماری های تخریب عصبی مانند آلزایمرها و پارکینسون و بیماری های پرویون یافت می شود (۲۲). کرلی در تعدادی از فرآیندهای بیولوژیکی، از جمله تشکیل بیوفیلم، تجمع سلول، چسبندگی و حمله سلول میزبان، و به عنوان القا کننده های قوی پاسخ التهابی میزبان نقش دارد *E. coli* و *Salmonella spp*. برای توسعه بیوفیلم مهم هستند (۲۳).

کرلی به پروتئین فیبرونکتین ماتریس خارج سلولی متصل می شود، که ممکن است در استعمار میزبان کمک کند (۲۴).

پیلی در باکتری های گرم مثبت:

ساختارهای پیلوس در باکتری های گرم مثبت برای اولین بار در ۱۹۶۸ توصیف شد، زمانی که یک مطالعه الکترونی میکروسکوپی میله های انعطاف پذیر را در سطح *Corynebacterium renale* نشان داد (۲۵).

pili در بسیاری از باکتریهای گرم مثبت دیگر از جمله *Actinomyces*، *Ruminococcus*، *Enterococcus*، *Clostridia* و چندین گونه استرپتوکوک کشف شده است (۲۶-۲۷).

دو نوع پیلی در باکتری های گرم مثبت توسط میکروسکوپ الکترونی شناسایی شده است. ۱- میله های نازک و کوتاهی که طول آنها بین ۷۰ و ۵۰۰ نانومتر طول دارد، با قطر ۱-۲ نانومتر در سطح استرپتوکوکوس سالویاریوس، *S. gordonii* و *S. oralis* پیدا شده است. ۲- پیلی انعطاف پذیر بسیار طولانی تر (۰.۳-۳ میلی متر) با قطر ۳-۱۰ نانومتر در گونه *Corynebacterium* توصیف شده است و

جدول ۱ - تفاوت بین پیلی و فلاژلا

S.N.	Characteristics	Flagella	Pili
1	Definition	Flagella are long, whip like, helical appendages that protrude through the cell membrane.	Pili are hollow, non-helical, filamentous appendages that protrude from the surface of cell.
2	Structure	Helical but not straight.	Straight non helical.
3	Length	Long whip like.	Short and hair like.
4	Thickness	Comparatively thicker than pili (15-20nm in diameter).	Thinner than flagella (3-10nm in diameter).
5	Number	Lesser than pili.	Numerous.
6	Occurrence	May be polar or lateral or peritrichous.	Throughout the surface of cell.
8	Found in	Both Gram positive and Gram negative bacteria.	Gram negative bacteria.
9	Made up of	Flagellin protein	Pilin protein
10	Attached to cell wall	No	Yes
11	Origin	Cytoplasmic membrane	Cell wall
12	Organ of adhesion	Absent	Present
13	Required for conjugation	No	Yes
14	Types	3 types: Bacterial, Eukaryotic and Archaeal.	2 types: Conjugative and Type IV.
15	Function	Responsible for motility but can also be used to sense certain temperature and chemicals or metals.	Responsible for attachment, transfer of DNA to other cell during bacterial conjugation i.e. genetic exchange. Also perform motility.
16	Motion	Wave like, undulating, sinusoidal. Rotation much like a propeller of a boat motor.	Twitching motility, performs by type IV pili.
17	Examples	Salmonella	Pseudomonas

مایکوباکتریوم توبرکلوزیس به نام *Flp* شناخته شده با وزن مولکولی 150bp که از زیرواحد های پروتئینی 6KDa تشکیل شده و به وسیله مایکوباکتریوم توبرکلوزیس H37Rv کد میشود (۳۴-۳۵). *Flp* جزء پیلی تیپ IV است که نازک و قابل انعطاف است و ۶-۷ نانومتر قطر دارد. پیلی تیپ IV در ارتباط با بیماریزایی بوده و خصوصیات بیولوژیکی مانند حرکت *twitching*، تجمع باکتریایی، تشکیل بیوفیلم و پیشرفت استقرار در بافت میزبان و انتقال DNA دخالت میکند. علی رغم پیشرفت تشخیص، نظارت و رژیم درمانی، میزان بروز بیماری سل امروزه در حال افزایش است (۳۶).

است بیمار نیست و بیماری را به فرد دیگ منتقل نمی- کند (۳۲).

باکتری عامل بیماری سل با نام مایکوباکتریوم توبرکلوزیس دارای دو نوع پیلی تیپ IV و پیلی *Curli* است که در شرایط محیطی مختلف بر اساس سیگنال هایی که از محیط دریافت میکند، یک نوع از پیلی را تولید میکند (۳۳).

یک نوع پیلی در مایکوباکتریوم توبرکلوزیس به نام *Mtp* با وزن مولکولی 361 bp است که از زیرواحد های پروتئینی 4KDa تشکیل شده و به وسیله مایکوباکتریوم توبرکلوزیس H37Rv کد میشود. مورفولوژی پیلی دوم که به شکل بسته های طنابی ظاهر میشوند، در



نشر

منابع:

- 1) T. Profta,c,* and E. N. Bakerb,c - Pili in Gram-negative and Gram-positive bacteria – structure, assembly and their role in disease.
- 2) Anderson,T.F.(1949)IntheNatureoftheBacterialSurface, Oxford University Press. Oxford, U.K.
- 3) Houwink, A. L. 1949. In The Nature of the Bacterial Surface. Ed. A. A. Miles, N. W. Pirie, p. 92. Oxford, Engl: Oxford Univ. Press
- 4) Velayati AA, Farnia P, Masjedi MR. Pili in totally drug resistant Mycobacterium tuberculosis (TDR-TB). Int J Mycobacteriol 2012; 1: 57-58.
- 5) T. Profta,c,* and E. N. Bakerb,c - Pili in Gram-negative and Gram-positive bacteria – structure, assembly and their role in disease
- 6) Brinton, C. C., JUN. (1965). The structure, function, synthesis and genetic control of bacterial pili and a molecular model for DNA and RNA transport in Gram-negative bacteria. Transactions of the New York Academy of Sciences 21, 1003-1054.
- 7) Pershina, Z. G., Vasilyeva, I. G. 1960. Zh. Mikrobiol Epidemiol Immunobiol 31:14-17
- 8) Duguid, J. P. 1966. 1. Pathol. Bacteriol. 92:137-38
- 9) Natasha Naidoo & Manormoney Pillay-Bacterial pili, with emphasis on Mycobacterium tuberculosis curli pili: potential biomarkers for point-of care tests and therapeutics
- 10) Sauer, F.G., Remaut, H., Hultgren, S. J. and Waksman, G. (2004). Fiber assembly by the chaperone-usher pathway. Biochim. Biophys. Acta 1694, 259–267.
- 11) Capitani, G., Eidam, O., Glockshuber,R. and Grutter, M. G. (2006).Structuralandfunctionalinsightsinto theassemblyof type 1 pili from Escherichia coli. Microbes Infect 8, 2284–2290.
- 12) Zavialov, A. V., Berglund, J., Pudney, A. F., Fooks, L.J., Ibrahim, T. M., MacIntyre, S. and Knight, S. D. (2003). Structure and biogenesis of the capsular F1 antigen from Yersinia pestis: preserved

تصور بر آن بود که این باکتری فاقد پیلی است در صورتی که اخیراً بررسی های شیمیایی و اطلاعات ژنتیکی نشان داده که مایکوباکتریوم توبرکلوزیس، پیلی تولید میکند. بسیاری از باکتری های پاتوژنی گیاهی و حیوانی، اعضای پلی مری چسبنده به نام پیلی یا فیمبریایه تولید میکنند که به اتصال اولیه و استقرار با موفقیت در سلول های یوکاریوت کمک می کند (۳۷).

بحث:

پیلی باکتری ها نمونه ی بارزی از ساختار های پیچیده است که برای ایجاد ارگانیسم های زنده قادر به استعمار در محیط های مختلف ضروری هستند.

آنها به طور معمول بلند ، باریک و انعطاف پذیر هستند ، به منظور دسترسی به سطوح مناسب ، دارای خواص چسبندگی هستند و همچنین قادر به مقاومت در برابر فشارهای فیزیکی ، شیمیایی و آنزیمی هستند.

در چند سال گذشته شاهد اکتشافات جدید و جالب توجهی بوده ایم که نه تنها درک ما از چگونگی مونتاژ این ساختارها را در سطح اتمی و مولکولی را افزایش داده است ، بلکه تعداد گونه های شناخته شده دارای پیلی را نیز به طرز چشمگیری افزایش داده است.

بنابراین، pili در پاتوژن های گرم مثبت مانند استرپتوکوک پنومونیه ، استرپتوکوک های گروه A و B و مایکوباکتریوم توبرکلوزیس یافت شده است ، که مکمل طیف گسترده ای از ارگانیسم های گرم منفی است که از مدت ها قبل به عنوان بیان کننده Pili شناخته شده اند. این اکتشافات ، برای درک بیماری انسان بسیار مهم هستند . برخی از این پیلی ها علاوه بر نقش چسبندگی ، از عملکردهای دیگری نیز برخوردار هستند ، از جمله نقش در جذب DNA و تحرک. از آنجایی که اکنون درباره ساختار و مونتاژ پیلوس ، حداقل در مورد انواع اصلی pili ، اطلاعات زیادی در دست است ، هنوز سوالات بسیاری در مورد نحوه چسبندگی آنها به سلول های میزبان وجود دارد. ما می توانیم انتظار داشته باشیم که تمرکز عمده چند سال آینده بر این موارد باشد که این حوزه ها ، ساختارها ، ویژگی ها و حالت های اتصال آنها را مشخص می کند ، زیرا آنها در واقع "نیروهای خط مقدم" در حمله عوامل بیماری زا به میزبان خود هستند.

- 22) Chapman, M. R., Robinson, L. S., Pinkner, J. S., Roth, R., Heuser, J., Hammar, M., Normark, S. and Hultgren, S. J. (2002). Role of *Escherichia coli* curli operons in directing amyloid fiber formation. *Science* 295, 851 – 855.
- 23) Austin, J. W., Sanders, G., Kay, W. W. and Collinson, S. K. (1998). Thin aggregative fimbriae enhance *Salmonella enteritidis* biofilm formation. *FEMS Microbiol. Lett.* 162, 295–301.
- 24) Olsen, A., Jonsson, A. and Normark, S. (1989). Fibronectin binding mediated by a novel class of surface organelles on *Escherichia coli*. *Nature* 338, 652–625.
- 25) Yanagawa, R., Otsuki, K. and Tokui, T. (1968). Electron microscopy of fine structure of *Corynebacterium renale* with special reference to pili. *Jpn J Vet Res* 16, 31–37.
- 26) Ton-That, H. and Schneewind, O. (2004). Assembly of pili in Gram-positive bacteria. *Trends Microbiol.* 12, 228–234.
- 27) Telford, J.L., Barocchi, M.A., Margarit, I., Rappuoli, R. and Grandi, G. (2006). Pili in gram-positive pathogens. *Nat. Rev. Microbiol.* 4, 509–519.
- 28) Willcox MD, Drucker DB. (1989). Surface structures, co-aggregation and adherence phenomena. *59(238):19-29*
- 29) Glickman, M. S., & Jacobs, W. R. 2001. Microbial pathogenesis of *Mycobacterium tuberculosis*: dawn of a discipline. *Cell*, 104(4), 477-485.
- 30) Sakamoto, K. 2012. The pathology of *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Veterinary Pathology*, 49(3), 423-439.
- 31) Welin, A. 2011. Survival strategies of *Mycobacterium tuberculosis* inside the human macrophage (Doctoral dissertation, Linköping University Electronic Press).
- 32) A.A. Velayati, M.R. Masjedi, P. Farnia, Latent tuberculosis (TB) bacilli: yes or no to preventive chemotherapy, *Int. J. MYCO.* 1 (2012) 1–2.
- 33) Ramsugit, S., & Pillay, M. 2015. Pili of *Mycobacterium tuberculosis*: current knowledge and future prospects. *Archives of Microbiology*, 197(6), 737-744.
- 34) Barksdale, L., and K. S. Kim. 1977. *Mycobacterium*. *Bacteriol Rev* 41:217-372.
- folding energy drives fiber formation. *Cell* 113, 587–596.
- 13) Zavialov, A. V., Berglund, J., Pudney, A. F., Fooks, L.J., Ibrahim, T. M., MacIntyre, S. and Knight, S. D. (2003). Structure and biogenesis of the capsular F1 antigen from *Yersinia pestis*: preserved folding energy drives fiber formation. *Cell* 113, 587–596.
- 14) Anderson, K. L., Billington J., Pettigrew, D., Cota, E., Simpson, P., Roversi, P., Chen, H. A., Urvil, P., du Merle, L., Barlow, P.N., Medof, M.E., Smith, R.A., Nowicki, B., Le Bougunc, C., Lea, S.M. and Matthews, S. (2004). Anatomic resolution model for assembly, architecture, and function of the Dr adhesins. *Mol. Cell* 15, 647–657.
- 15) Brinton, C.C. (1969) Contributions of pili to the specificity of the bacterial surface and a unitary hypothesis of conjugal infectious heredity. In *The Specificity of Cell Surfaces* (Davis, B. D. and Warren, L., ed. eds), pp. 37–70. Prentice-Hall Inc., Englewood Cliffs, NJ.
- 16) Connell, I., Agace, W., Klemm, P., Schembri, M., Marild, S. and Svanborg, C. (1996) . Type I fimbrial expression enhances *Escherichia coli* virulence for the urinary tract. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* 93, 9827–9832.
- 17) Ottow, J. C. (1975). Ecology, physiology, and genetics of fimbriae and pili. *Annu. Rev. Microbiol.* 29, 79–108.
- 18) Craig, L., Pique, M.E. and Tainer, J.A. (2004). Type IV pilus structure and bacterial pathogenicity. *Nat. Rev. Microbiol.* 2, 363–378.
- 19) Strom, M. S. and Lory, S. (1993). Structure-function and biogenesis of the type IV pili. *Annu. Rev. Microbiol.* 47, 565–596.
- 20) Varga, J.J., Nguyen, V., O'Brien, D.K., Rodgers, K., Walker, R. A. and Melville, S. B. (2006). Type IV pili-dependent gliding motility in the Gram-positive pathogen *Clostridium perfringens* and other *Clostridia*. *Mol. Microbiol.* 62, 680–694.
- 21) Olsen, A., Jonsson, A. and Normark, S. (1989). Fibronectin binding mediated by a novel class of surface organelles on *Escherichia coli*. *Nature* 338, 652–625.



نفس

- 35) Gordon J, White RG. Surface peptidoglycolipid filaments on *Mycobacterium leprae*. Clin Exp Immunol 1971; 9: 539-547
- 36) Dye, C., Scheele, S., Dolin, P., Pathania, V., & Raviglione, M. C. 1999. Global burden of tuberculosis: estimated incidence, prevalence, and mortality by country. Jama, 282(7), 677-686.
- 37) Finlay, B. B., & Falkow, S. 1997. Common themes in microbial pathogenicity revisited. Microbiology and molecular Biology Reviews, 61(2), 136-169.