Original Article

Iranian Journal of Medical Microbiology

Iran J Med Microbiol: Volume 12, Number 6 (January - February)

Journal homepage: www.ijmm.ir

Prevalence of *Mycoplasma pneumonia* in Patients with Respiratory Infections from Shaheed Mostafa Khomeini and Khatam Hospitals by Culture and PCR Methods

Iman Pouladi[1], Mohsen Taheri[1], Mohammad Niakan[1*], Reza Mirnejad[2], Ghasem Azimi[3]

1. *Department of Microbiology, Medicine Faculty, Shahed University, Tehran, Iran*
2. *Molecular Biology Research Center, Systems Biology and Poisonings Institute, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran*
3. *Departement of Internal Diseases, Shahid Mostafa Khomeni Hospital, Tehran, Iran*

Article Information

Article history:
Received: 2018/05/21
Accepted: 2019/01/22
Available online: 2019/03/06

Article Subject:
Medical Bacteriology

IJMM 2019; 12(6): 382-389

Corresponding author:

Mohammad Niakan
Department of Microbiology, Medicine Faculty, Shahed University, Tehran, Iran

Email:
niakan@shahed.ac.ir

Use your device to scan and read the article online

Abstract

Background and Aims: *Mycoplasma pneumoniae* is one of the most important pathogens causing human respiratory tract infection; especially in community-acquired pneumonia (responsible for 10 – 40% of these infections).The aim of this study was to evaluate the prevalence of *Mycoplasma pneumonia* in patients with respiratory infections from Mostafa Khomeini and Khatam hospitals, by culture and molecular methods.

Materials and Methods: In this study, 100 samples of throat swab from patients with respiratory infections were collected. All samples were cultured in PPLO broth and PPLO agar. After culture and genomic DNA extraction, PCR was carried out using specific *M. pneumoniae* primers.

Results: In this study, 14 (14%) colonies of *Mycoplasma* were isolated on PPLO agar medium. Using specific primers, 17 samples (17%) were detected as *Mycoplasma* genus and 6 samples (6%) were confirmed to be *M. pneumoniae* species.

Conclusions: Based on the results of this study, For the detection of *M. pneumoniae* among the respiratory infections cases PCR is a highly reliable and sensitive method compared to the culture media. Using specific primers, PCR can confidently detect and separate infectious agents even in the genesis and species level.

Keywords: *Mycoplasma pneumonia*, Polymerase chain reactions, Culture, Respiratory infections

Copyright © 2019, Iran J Med Microbiol This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-noncommercial 4.0 International License which permits copy and redistribute the material just in noncommercial usages, provided the original work is properly cited.

How to cite this:

Pouladi I, Taheri M, Niakan M, Mirnejad R, Azimi G. Prevalence of Mycoplasma pneumonia in Patients with Respiratory Infections from Mostafa Khomeini and Khatam Hospitals by Culture and PCR Methods . Iran J Med Microbiol. 2019; 12 (6) :382-389

مقاله پژوهشی

مجله میکروب‌شناسی پزشکی ایران

سال ۱۲ ـ شماره ۶ ـ بهمن ـ اسفند ۱۳۹۷

Journal homepage: www.ijmm.ir

فراوانی *مایکوپلاسما پنومونیه* در بیماران مبتلا به عفونت‌های تنفسی مراجعه‌کننده به بیمارستان‌های مصطفی خمینی(ره) و خاتم‌الانبیا به روش‌های کشت و PCR

ایمان پولادی[۱]، محسن طاهری[۱]، محمد نیاکان[*۱]، رضا میرنژاد[۲]، قاسم عظیمی[۳]

۱. گروه میکروب‌شناسی، دانشکدهٔ پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

۲. مرکز تحقیقات بیولوژی مولکولی، پژوهشگاه سیستم بیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا...(عج)، تهران، ایران

۳. گروه بیماری‌های داخلی، بیمارستان شهید مصطفی خمینی، تهران، ایران

اطلاعات مقاله

تاریخچهٔ مقاله

دریافت: ۱۳۹۷/۰۲/۳۱

پذیرش:۱۳۹۷/۱۱/۲

انتشار آنلاین: ۱۳۹۷/۱۲/۲۵

موضوع:

باکتری‌شناسی پزشکی

IJMM1397;12(6): 382-389

نویسندهٔ مسئول:

محمد نیاکان

گروه میکروب‌شناسی، دانشکدهٔ پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

پست الکترونیک:

niakan@shahed.ac.ir

چکیده

زمینه و هدف: *مایکوپلاسما پنومونیه* یکی از مهم‌ترین پاتوژن‌هایی است که باعث ایجاد عفونت‌های دستگاه تنفسی می‌شود؛ به‌ویژه در پنومونیه‌های اکتسابی از جامعه که عامل ۱۰ تا ۴۰درصد پنومونی اکتسابی از جامعه است. هدف از این مطالعه، بررسی فراوانی *مایکوپلاسما پنومونیه* در بیماران مبتلا به عفونت‌های تنفسی مراجعه‌کننده به بیمارستان‌های مصطفی خمینی (ره) و خاتم‌الانبیا تهران به روش کشت و مولکولی است.

مواد و روش‌کار: در این پژوهش ۱۰۰ نمونه سواب گلو از بیماران مبتلا به عفونت‌های تنفسی جمع‌آوری شد. تمام نمونه‌ها در محیط مایع PPLO Broth و محیط جامد PPLO agar کشت داده شدند. پس از کشت و استخراج ژنوم از طریق کیت ساخت شرکت Roche آلمان، تکنیک PCR با پرایمرهای اختصاصی اجرا شد.

یافته‌ها: در این مطالعه، ۱۴ نمونه (۱۴درصد) پرگنه مربوط به مایکوپلاسما در محیط PPLO Agar ایزوله شد. با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ۱۷ نمونه (۱۷درصد) از نظر جنس مایکوپلاسما و ۶ نمونه (۶درصد) از نظر وجود گونه *مایکوپلاسما پنومونیه* مثبت گزارش شد.

نتیجه‌گیری: نتایج این تحقیق نشان داد، برای شناسایی *مایکوپلاسما پنومونیه* در بین مبتلایان به عفونت‌های دستگاه تنفسی ، روش مولکولی PCR بطور معنی داری نسبت به کشت از حساسیت بالاتری برخودار است و با به کار گیری پرایمرهای اختصاصی می‌توان این عوامل بیماری‌زا را در حد جنس و گونه با دقت بیشتری مورد شناسایی قرار داد.

کلمات کلیدی: *مایکوپلاسما پنومونیه*، واکنش زنجیره پلیمراز، کشت، عفونت‌های تنفسی

کپی‌رایت © مجله میکروب شناسی پزشکی ایران: دسترسی آزاد؛ کپی برداری، توزیع و نشر برای استفاده غیرتجاری با ذکر منبع آزاد است.

مقدمه

عفونت پنومونی آتیپیک ریوی یک عفونت دستگاه تنفسی فوقانی و تحتانی است (۱،۲) که به پنومونی اکتسابی از جامعه (Community Acquired Pneumonia) شناخته می‌شود (۳،۴) و سبب التهاب برگشت‌پذیر برونش‌ها می‌شود (۴). بیماران معمولا علائم و نشانه‌های تراکئوبرونشیت (تب تا ۳۹/۵ درجه، لرز، بدحالی، گلودرد، آب‌ریزش از بینی، سردرد و سرفه‌های خشک) را نشان می‌دهند (۵-۷). پنومونی آتیپیک معمولا شدید نیست، اما خستگی و بدحالی ممکن است در افراد وجود داشته باشد و گفته می‌شود این افراد از پنومونی (Walking) رنج می‌برند (۵،۸،۹). *مایکوپلاسما پنومونیه* از شایع‌ترین علل پنومونی آتیپیک است که به‌طور عمده در کودکان و نوجوانان بین ۵ تا ۱۵ سال رخ می‌دهد و (۱۰-۱۲) بسته به موقعیت و محیط، ۱۰ تا ۴۰درصد موارد پنومونی اکتسابی از جامعه را ایجاد می‌کند (۱۰،۱۳،۱۴). باکتری های جنس مایکوپلاسما فاقد دیوارهٔ سلولی هستند و در انسان

بیماری‌های مختلفی را ایجاد می‌کنند (۱۵،۱۶). از بین مایکوپلاسماها، گونهٔ *مایکوپلاسما پنومونیه* رایج‌ترین گونهٔ مایکوپلاسمای مسبب بیماری‌های انسانی از جمله عفونت آتیپیک ریوی، عفونت مفصل و سایر عفونت‌ها است (۸،۱۵،۱۶،۱۸). پنومونی ناشی از *مایکوپلاسما پنومونیه* با تظاهرات مکرر خارج ریوی (انسفالیت، نوریت نور، سوزش حاد، سکتهٔ مغزی، فلج عصب جمجمه و مننژیت آسپتیک) همراه است (۱۹). گزینه‌های درمانی برای عفونت‌های *مایکوپلاسما پنومونیه*، ماکرولیدها (MLs)، تتراسایکلین‌ها و فلوروکینولون‌ها هستند (۲۰). *مایکوپلاسما پنومونیه* منجر به بیماری تنفسی و پنومونی با شیوعی در حدود ۲ تا ۳۵درصد، بسته به روش شناسایی، دورهٔ مطالعه و جمعیت تحت مطالعه می‌شود. داده‌ها از ۲۱ کشور نشان داد که *مایکوپلاسما پنومونیه* به‌عنوان شایع‌ترین نوع باکتری مسبب پنومونی آتیپیک بوده که مسئول ایجاد حدود ۱۲درصد از پنومونی اکتسابی از جامعه طی سال‌های ۱۹۹۶ تا ۲۰۰۴ است (۲۱،۲۲). طی مطالعه‌ای که در هند صورت گرفته است، از مجموع ۴۵۳ بیمار مبتلا به علائم پنومونی (۷درصد) با PCR (ژن *P1*) مثبت گزارش شد (۲۳). همچنین طی یک دورهٔ ۱۸ماهه، ۴۸۵ نمونه سواب خلط گلو از بیماران بستری‌شده در بیمارستان عمومی بصره در عراق با تشخیص بالینی پنومونی گرفته شد که شایع‌ترین پاتوژن‌ها *Streptococcus pneumoniae* با (۴۳/۹درصد) و پس از آن *مایکوپلاسما پنومونیه* (۱۹/۴درصد) بودند (۲۴). مطالعه‌ای در ایالات‌متحده نشان داد که ۵۰درصد پنومونی در کودکان و ۳۵درصد در بزرگ‌سالان به‌علت دو عامل ویروسی و *مایکوپلاسما پنومونیه* رخ می‌دهد و همچنین مطالعه‌ای در ژاپن نشان داد که ۲۶/۸درصد از کودکان مبتلا به پنومونی از نظر وجود *مایکوپلاسما پنومونیه* مثبت بودند (۱۰). پیش‌بینی شده است که بیماری‌های ناشی از پاتوژن‌های تنفسی در ایالات‌متحده تا ۲۰درصد می‌رسد و تقریبا ۵۰۰،۰۰۰ نمونه از پنومونی‌های اکتسابی از جامعه را شامل می‌شوند که هرساله باید در ایالات‌متحده بستری شوند و ۳۵درصد پنومونی‌های سرپایی و ۱۸درصد از موارد پنومونی که نیاز به بستری دارند، از طریق *مایکوپلاسما پنومونیه* ایجاد می‌شود (۲۵،۲۶). شیوع پنومونیه ناشی از *مایکوپلاسما پنومونیه* در داخل کشور براساس مطالعهٔ Sharifi و همکاران در شهر تبریز (۶درصد) است (۲۷). باتوجه به مطالعات محدودی در ایران که مبتنی بر روش‌های کشت و سرولوژیک بوده و همچنین مطالعاتی که براساس روش‌های مولکولی انجام‌شده بسیار محدود و کم است. درنتیجه انجام مطالعات بیشتر با استفاده از روش‌های دقیق و حساسی همانند روش‌های مولکولی PCR بسیار حائز اهمیت است که به بررسی دقیق میزان شیوع پنومونی ناشی از *مایکوپلاسما پنومونیه* کمک می‌کند؛ لذا هدف از این مطالعه، بررسی میزان فراوانی *مایکوپلاسما پنومونیه* در بیماران مبتلا به عفونت‌های تنفسی مراجعه‌کننده به بیمارستان‌های مصطفی خمینی (ره) و خاتم‌الانبیا تهران به روش کشت و مولکولی PCR است.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری و کشت نمونه‌ها

طی این مطالعه، درمجموع ۱۰۰ نمونه سواب گلو از بیماران مشکوک به عفونت‌های *مایکوپلاسما پنومونیه*، شامل تمامی بیمارانی که دارای علائم بالینی عفونت تنفسی مانند ضعف و بی حالی، خستگی، سردرد و سرفهٔ خشک پایدار، تنگی نفس، اسهال، وجود خلط و درد عضلانی بودند، زیرنظر پزشک فوق تخصص ریه با رعایت اصول و شرایط استریل جمع‌آوری شد و پس از انتقال نمونه‌ها در محیط ترانسپورت به آزمایشگاه، ۱ mL از محیط‌های انتقالی را با عبوردادن از فیلتر ۰/۴۵ میکرومتر داخل محیط اصلی PPLO Broth (pH =۷/۸±۰/۲) انتقال داده و در شرایط CO_2 ۵-۱۰درصد به‌مدت ۳ هفته در دمای ۳۷°C انکوبه شدند. بعد از ۳ بار ساب کالچر نمونه‌ها در داخل محیط مایع از هر نمونه ۱۰۰ µl در محیط جامد PPLO agar کشت داده و نمونه‌ها در شرایط CO_2 ۵-۱۰درصد به‌مدت ۱۰ -۷ روز در ۳۷°C انکوبه شدند. در این مطالعه سویهٔ استاندارد *مایکوپلاسما پنومونیه* (ATCC: 29342) است که از مرکز تحقیقات بیولوژی مولکولی پژوهشکدهٔ سیستم بیولوژی دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله(عج) تهیه شد.

استخراج DNA از نمونه‌ها

پس از کشت نمونه‌های بالینی در محیط مایع PPLO broth برای استخراج DNA از محیط‌های مایع PPLO براثی که نمونه‌های بالینی داخل آنها کشت داده شده بودند از کیت Roche استفاده شد که بعد از انجام مراحل استخراج DNA نمونه‌ها تا زمان انجام PCR در دمای ۲۰°C- نگهداری شدند.

راه‌اندازی روش مولکولی

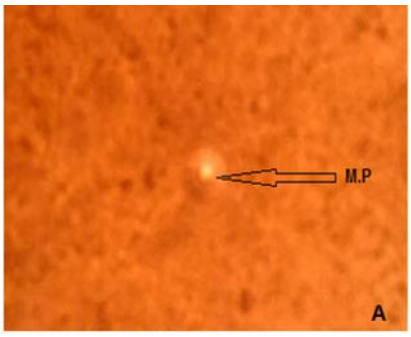
برای شناسایی جنس مایکوپلاسما (ژن *16SrRNA*) از پرایمرهای اختصاصی FP: 5' -ACTCCTACGGGAGGCAGCAGT-3 و RP:5'-TGCACCATCTGTCACTCTGTTAACCTC-3 با طول قطعه (bp ۷۱۳) و همچنین برای شناسایی *مایکوپلاسما پنومونیه* (ژن *P1*) از پرایمرهای

اختصاصی FP: 5'- AAAGGAAGCTGACTCCGACA-3' و RP: 5'-TGGCCTTGCGCTACTAAGTT-3' با طول قطعه (۴۵۰bp) استفاده شد (۱۶).

پس از BLAST کردن پرایمرهای انتخاب‌شده، حساسیت و اختصاصیت آنها در سایت NCBI تأیید شد و واکنش PCR با حجم نهایی ۲۵ µl طبق پروتکل، ۹۴°C Pre Denaturation برای ۵ دقیقه، ۳۵ سیکل شامل ۹۴°C Denaturation برای ۳۵ ثانیه، ۵۶°C برای ۴۰ ثانیه دمای Annealing و ۷۲°C برای ۴۵ ثانیه دمای Extension و همچنین یک مرحله Final Extention در ۷۲°C به‌مدت ۵ دقیقه برای گونهٔ *مایکوپلاسما پنومونیه* صورت گرفت. در پایان محصولات واکنش PCR در مقایسه با سویهٔ استاندارد *مایکوپلاسما پنومونیه* (ATCC: 29342) الکتروفورز شد.

یافته‌ها

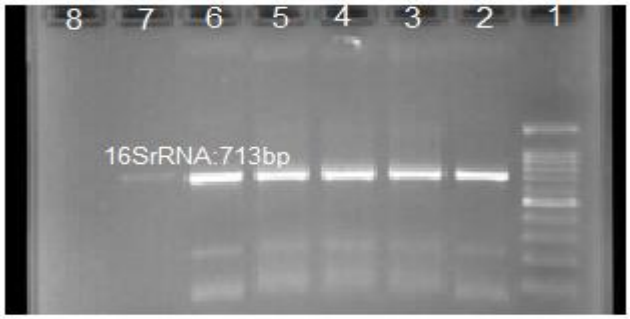
مطالعهٔ حاضر روی ۱۰۰ بیمار مبتلا به عفونت‌های تنفسی صورت گرفته است که ۴۸ مورد (۴۸درصد) از آنها مرد و ۵۲ مورد (۵۲درصد) از آنها زن بودند و محدودهٔ سنی بیماران حداقل ۱۷ سال و حداکثر ۸۵ سال و میانگین سنی بیماران (۵۳,۶۲) سال بود. نتایج مطالعهٔ حاضر مشخص کرد که از نمونه‌های جمع‌آوری شده، ۱۴ عدد (۱۴درصد) دارای پرگنه روی محیط PPLO agar هستند که در شکل ۱ نشان داده شده است.



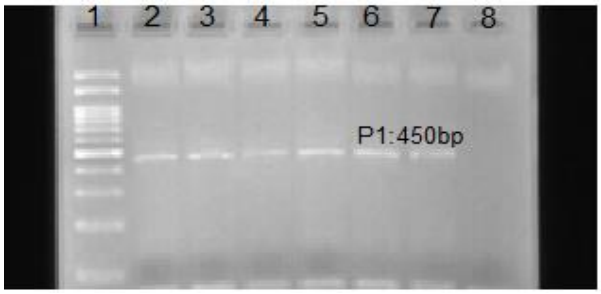
شکل ۱. تصویر مربوط به پرگنه *مایکوپلاسما پنومونیه*

نتایج راه‌اندازی PCR برای تشخیص گونهٔ *مایکوپلاسما پنومونیه*

نتایج PCR برای تعداد ۱۰۰ نمونهٔ بالینی سواب گلو نشان داد که ۱۷ نمونه از لحاظ جنس مایکوپلاسما (ژن *16SrRNA*) مثبت بوده و ۶ نمونه دارای (ژن *P1*) *مایکوپلاسما پنومونیه* بودند که در شکل ۲ و ۳ نشان داده شده است. همچنین در این مطالعه، حدود نیمی از بیماران دارای تظاهرات بالینی عفونت تنفسی *مایکوپلاسما پنومونیه* مانند خستگی ۶۳درصد، ضعف و بی‌حالی ۴۸درصد، سردرد ۵۰درصد، سرفهٔ خشک پایدار ۳۴درصد، سرفهٔ خلط‌دار ۶۱درصد، تهوع و استفراغ ۲۱درصد بودند. تمام بیمارانی که از نظر وجود ژن *P1* (گونهٔ *مایکوپلاسما پنومونیه*) مثبت گزارش شدند، دارای این تظاهرات بالینی بودند.



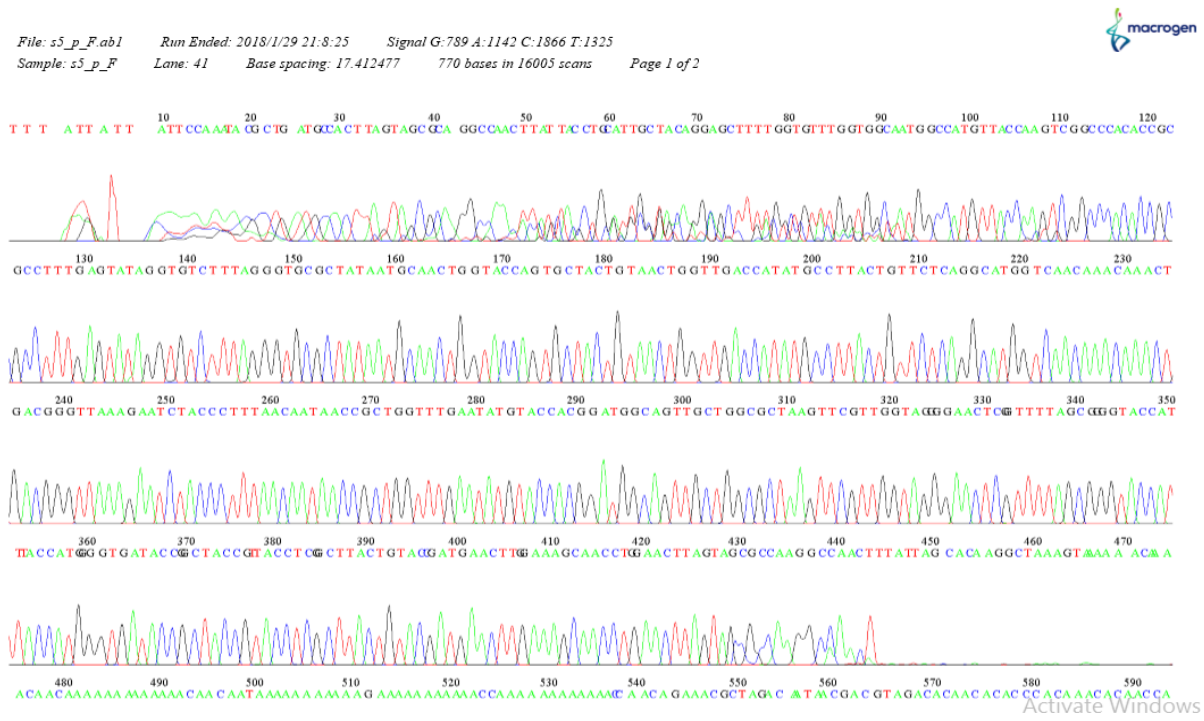
شکل ۲. نتیجه آزمون PCR برای جنس مایکوپلاسما ـ ژن 16SrRNA : ردیف ۱: Lader 100 bp ، ردیف ۲: کنترل مثبت (سویه استاندارد مایکوپلاسما پنومونیه ATCC : 29342)، ردیف ۳ تا ۷ : نمونه هایی از جنس مایکوپلاسما جدا شده از بیماران، ردیف ۸ : کنترل منفی می باشند.



شکل ۳. نتیجه آزمون PCR برای گونه *مایکوپلاسما پنومونیه* ـ ژن P1 : ردیف ۱: Lader 100 bp ، ردیف ۲: کنترل مثبت (سویه استاندارد *مایکوپلاسما پنومونیه* ATCC : 29342)، ردیف ۳ تا ۷ : نمونه هایی از *مایکوپلاسما پنومونیه* جدا شده از بیماران، ردیف ۸ : کنترل منفی می باشند.

نتایج تعیین توالی محصول PCR ژن *P1* گونهٔ *مایکوپلاسما پنومونیه*

محصول PCR مربوط به ژن *P1* گونهٔ *مایکوپلاسما پنومونیه* برای تعیین توالی به یک شرکت معتبر در خارج از کشور ارسال شد. با مشخص‌شدن توالی و بلاست کردن توالی مدنظر در محیط NCBI، مطابقت محصول PCR تعیین‌توالی‌شده با ژن *P1* گونهٔ *مایکوپلاسما پنومونیه* با شباهتی بیش از ۹۸درصد تأیید شد که در شکل ۴ نشان داده شده است.



شکل ۴. توالی حاصل از تعیین توالی محصول PCR ژن *P1* گونه *مایکوپلاسما پنومونیه*

بحث و نتیجه‌گیری

مایکوپلاسما پنومونیه یک باکتری منحصربه‌فرد است که فاقد دیوارهٔ سلولی بوده و برای رشد نیازمند استرول است. *مایکوپلاسما پنومونیه* موجب بیماری‌های متعددی همانند عفونت‌های دستگاه تنفسی (پنومونی آتیپیک) می‌شود و این موجب شده است که *مایکوپلاسما پنومونیه* در کانون توجه قرار گیرد (۱۵،۲۷). روش کشت محدودیت‌های زیادی مانند حساسیت پایین، مدت‌زمان لازم طولانی برای کشت و از طرفی نیاز به آزمایشگاه تخصصی و باکتری زنده دارد (۲۷).

در مطالعهٔ حاضر از ۱۰۰ نمونهٔ جمع‌آوری‌شده، ۱۴ نمونه (۱۴درصد) از لحاظ کشت و ۱۷ نمونه (۱۷درصد) از نظر جنس و همچنین ۶ نمونه (۶درصد) از نظر گونهٔ *مایکوپلاسما پنومونیه* مثبت گزارش شد که نشان‌دهندهٔ آمار نسبتا پایین آلودگی با *مایکوپلاسما پنومونیه* در بیماران مبتلا به پنومونی است. البته این تنها تحقیقی نیست که وجود *مایکوپلاسما پنومونیه* را در بیماران مبتلا به عفونت‌های تنفسی گزارش می‌کند، بلکه طی مطالعهٔ Dashو همکاران از مجموع ۱۳۰ بیمار، ۱۸ بیمار (۱۴درصد) با هر آزمونی برای *مایکوپلاسما پنومونیه* مثبت گزارش شده است که از این ۱۸ بیمار در ۹ بیمار (۵۰درصد) آزمون کشت و در ۵ بیمار (۲۷/۷درصد) تست PCR مثبت گزارش شده است (۲۸) که با نتایج حاصل از این مطالعه همخوانی ندارد و اختلاف اندکی وجود دارد. در مطالعهٔ Wenti Xu و همکاران، اطلاعات اولیهٔ بیماران SARI (severe acute respiratory infection) همراه با نمونهٔ گلو یا سرم جمع‌آوری شد. ۵۸۵ نمونه SARI جمع‌آوری شد که میزان شیوع عفونت پنومونی ناشی از *مایکوپلاسما پنومونیه* طی این مطالعه (۱۹/۶۶درصد، ۵۸۵/۱۱۵)، است که نسبت به مطالعهٔ حاضر شیوع بیشتری دارد. همچنین طی مطالعاتی در ایالات‌متحده نشان داده شده است که ۵۰درصد پنومونی در کودکان و ۳۵درصد در بزرگ‌سالان به علت هر دو عامل ویروسی و *مایکوپلاسما پنومونیه* رخ می‌دهد و مطالعه‌ای در ژاپن نشان داده که ۲۶/۸درصد از کودکان مبتلا به پنومونی از نظر وجود *مایکوپلاسما پنومونیه* مثبت بوده‌اند (۱۰). *مایکوپلاسما پنومونیه* به‌طور عمده در کودکان و نوجوانان تشخیص داده می‌شود و شایع‌ترین علل پنومونی آتیپیک است (۲۹،۳۰). بسته به موقعیت و محیط، ۱۰ تا ۴۰ درصد موارد پنومونی اکتسابی از جامعه به‌علت *مایکوپلاسما پنومونیه* ایجاد می‌شود (۱۰،۳۱). طی مطالعهٔ Sharifi و همکاران که روی ۲۰۰ بیمار در شهر تبریز انجام گرفت، میزان شیوع پنومونی ناشی از *مایکوپلاسما پنومونیه* (۶درصد) گزارش شد (۲۷) که با نتایج حاصل از این مطالعه همخوانی دارد. طی

مطالعات صورت‌گرفته، شیوع عفونت پنومونی ناشی *مایکوپلاسما پنومونیه* در هند (۷درصد) است (۲۳) که با مطالعهٔ حاضر اختلاف اندکی دارد. طبق تحقیقاتی که در کشورهای دیگر انجام شده، عفونت تنفسی *مایکوپلاسما پنومونیه* در گروه سنی ۵ تا ۲۰ سالگی بیشترین فراوانی را دارد (۲۷،۲۹،۳۰) که با شیوعی در حدود ۲ تا ۳۵ درصد و بسته به روش شناسایی، دورهٔ مطالعه و جمعیت مورد مطالعه متفاوت است (۲۱،۲۲). فراوانی و شیوع پنومونی ناشی از *مایکوپلاسما پنومونیه* در این مطالعه (۶درصد) بوده که این فراوانی نسبت به کشورهایی مانند لهستان ۵۲درصد، آمریکا ۲۷درصد و۲۹/۵درصد، دانمارک ۸درصد و کشورهای آسیای شرقی (۴۰-۲۰درصد) کمتر است (۲۸) که با مطالعهٔ حاضر همخوانی ندارد. فراوانی عفونت پنومونی ناشی از *مایکوپلاسما پنومونیه* در این پژوهش نسبت به کشورهای (ترکیه۱۶/۲درصد)، (عراق ۱۹/۴درصد) و دیگر کشورها مانند هند (۷درصد) پایین‌تر است (۲۳،۲۴،۲۷). براساس نتایج حاصل‌شده از این مطالعه، فراوانی این عفونت نسبت به شهر اهواز (۳درصد) و شهر رشت (۱درصد) بالاتر است و با فراوانی آن در شهر تبریز برابر است (۲۷). روش طراحی‌شده در این مطالعه با توجه به اینکه تمام بیمارانی که گونهٔ *مایکوپلاسما پنومونیه* در آنها از طریق روش مولکولی PCR مثبت شدند، دارای علائم بالینی عفونت تنفسی مانند (ضعف و بی‌حالی، خستگی، سردرد و سرفهٔ خشک پایدار، تنگی نفس، اسهال، وجود خلط و درد عضلانی) بودند. همچنین با توجه به اینکه محصول PCR تعیین توالی شده، نتایج دقیقی را ارائه داده است. براساس نتایج این مطالعه، روش مولکولی PCR ژن *16SrRNA* مربوط به جنس مایکوپلاسما (۱۷درصد) و ژن *P1* مربوط به گونهٔ *مایکوپلاسما پنومونیه* (۶درصد) را در بیماران مبتلا به عفونت‌های تنفسی با سرعت و دقت تشخیص داده و این نتایج نشان‌دهندهٔ آن است که در (۱۱درصد) مواردی که ژن *16SrRNA* در آنها وجود داشته، گونه‌های مربوطه نامشخص هستند و این حاکی از آن است که علاوه بر گونهٔ *مایکوپلاسما پنومونیه*، دیگر گونه‌های *مایکوپلاسما* در دستگاه تنفسی حضور دارند که باید شناسایی شده و در کانون توجه قرار گیرند. نکتهٔ دیگری که اهمیت فراوانی دارد، این است که براساس نتایج به‌دست‌آمده از این مطالعه، فراوانی بیماران مبتلا به عفونت‌های تنفسی ناشی از *مایکوپلاسما پنومونیه* (۶درصد) بوده که این حاکی از آن است که علاوه بر *مایکوپلاسما پنومونیه* دیگر عوامل باکتریایی و نیز عوامل ویروسی در عفونت‌های تنفسی دخیل هستند که باید شناسایی شده و به آنها توجه شود. همچنین مشخص شد روش مولکولی PCR یک تکنیک سریع و حساس برای تشخیص *مایکوپلاسما پنومونیه* است و در مقایسه با روش‌های دیگر به‌ویژه کشت، حساسیت و اختصاصیت بسیار بالایی دارد.

سپاسگزاری

نویسندگان از جناب آقای دکتر رضا گل‌محمدی، به‌خاطر فراهم‌کردن سویهٔ استاندارد *مایکوپلاسما پنومونیه* و جناب آقای دکتر محمود امین مرعشی و تمام کسانی که ما را در این راه یاری کردند، تشکر و قدردانی می‌کنند.

تعارض منافع

بین نویسندگان تعارض در منافع گزارش نشده است.

References

1. Amirian S, Amini K, Parviz M. Identification of *Mycoplasma Pneumonia* Isolated from the Respiratory Secree tions of Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease Using Polymerase Chain Reaction in Kerman Province, Iran. Tabari J Prev Med. Winter 2016; 1(3): 8-15.
2. Gdalevich M, Haas EJ, Dukhan L, Katz M, Zelenski V, Moran-Gilad J. control of a Mycoplasma pneumoniae Outbreak in an institutional setting Using azithromycin Prophylaxis. Frontiers in public health. 2018; 5: 366. https://doi.org/10.3389/fpubh.2017.00366
3. Li W, Fang YH, Shen HQ, Yang DH, Shu Q, Shang SQ. Evaluation of a real-time method of simultaneous amplification and testing in diagnosis of Mycoplasma pneumoniae infection in children with pneumonia. PloS one. 2017; 12(5): e0177842. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0177842
4. Wang L, Feng Z, Zhao M, Yang S, Yan X, Guo W, et al. A comparison study between GeXP-based multiplex-PCR and serology assay for Mycoplasma pneumoniae detection in children with community acquired pneumonia. BMC Infect Dis. 2017; 17(1): 518. https://doi.org/10.1186/s12879-017-2614-3
5. Topley and wilson's microbiology and microbial infections(10th edition) W.G.Mertz, R.J.Hay.London. Hodder Arnold.2017 .
6. Kheiri B, Alhesan NA, Madala S, Assasa O, Shen M, Dawood T. Mycoplasma pneumoniae-associated Fuchs syndrome. Clinical case reports. 2018; 6(2): 434. https://doi.org/10.1002/ccr3.1350

7. Yu Y, Fei A. Atypical pathogen infection in community-acquired pneumonia. Biosci Trends. 2016; 10(1): 7-13. https://doi.org/10.5582/bst.2016.01021
8. Mahon CR, Lehman DC, Manuselis G. Textbook of diagnostic microbiology-e-Book. Elsevier Health Sciences; 2014.
9. Sharma L, Losier A, Tolbert T, Cruz CS, Marion CR. Pneumonia updates on Legionella, Chlamydophila, and Mycoplasma pneumonia. Clinics in chest medicine. 2017; 38(1): 45. https://doi.org/10.1016/j.ccm.2016.11.011
10. Xu W, Guo L, Dong X, Li X, Zhou P, Ni Q, et al. Detection of Viruses and *Mycoplasma pneumoniae* in Hospitalized Patients with Severe Acute Respiratory Infection in Northern China, 2015-2016. Jpn J Infect Dis. 2018; 71(2): 134 - 9. https://doi.org/10.7883/yoken.JJID.2017.412
11. Bao YX, Li J, Tian Y, Liu QH, Bao J. Atopy: a risk factor of refractory mycoplasma pneumoniae pneumonia?. Clin Respir J. 2017; 11(6): 931-4. https://doi.org/10.1111/crj.12439
12. Wang ZH, Li XM, Wang YS, Guo ZY. Changes in the levels of interleukin-17 between atopic and non-atopic children with Mycoplasma pneumoniae pneumonia. Inflammation. 2016; 39(6): 1871-5. https://doi.org/10.1007/s10753-016-0422-3
13. Kim JH, Cho TS, Moon JH, Kim CR, Oh JW. Serial changes in serum eosinophil-associated mediators between atopic and non-atopic children after Mycoplasma pneumoniae pneumonia. Allergy Asthma Immunol Res. 2014; 6(5): 428-33. https://doi.org/10.4168/aair.2014.6.5.428
14. Dorairaj A, Kopula SS, Kumar K. Atypical Pneumonia-Screening in a Tertiary Care Centre. J Clin Diagn Res. 2015; 9(11): DC18.
15. Golmohammadi R, Ataee RA, Alishiri GH, Mirnejad R, Najafi A, Tate M, et al. Molecular diagnosis of Mycoplasma pneumoniae in synovial fluid of rheumatoid arthritis patients. Iran J Med Microbiol. 2014; 8(1): 1-8.
16. Page CA, Krause DC. Protein kinase/phosphatase function correlates with gliding motility in Mycoplasma pneumoniae. Journal of bacteriology. 2013; 195(8): 1750-7. https://doi.org/10.1128/JB.02277-12
17. Kawai Y, Miyashita N, Kubo M, Akaike H, Kato A, Nishizawa Y, et al. Nationwide surveillance of macrolide-resistant Mycoplasma pneumoniae infection in pediatric patients. Antimicrobial agents and chemotherapy. 2013; 57(8): 4046-9. https://doi.org/10.1128/AAC.00663-13
18. Tian XJ, Dong YQ, Dong XP, Li JY, Li D, Jiang Y, et al . P1 gene of *Mycoplasma pneumoniae* in clinical isolates collected in Beijing in 2010 and relationship between genotyping and macrolide resistance. Chinese Medical Journal. 2013; 126 (20): 3944-3947.
19. Cillóniz C, Torres A, Niederman M, van der Eerden M, Chalmers J, Welte T, Blasi F. Community-acquired pneumonia related to intracellular pathogens. Intensive care medicine. 2016; 42(9): 1374-86. https://doi.org/10.1007/s00134-016-4394-4
20. Spuesens EB, Meijer A, Bierschenk D, Hoogenboezem T, Donker GA, Hartwig NG, et al. Macrolide resistance determination and molecular typing of Mycoplasma pneumoniae in respiratory specimens collected between 1997 and 2008 in The Netherlands. Journal of clinical microbiology. 2012; 50(6): 1999-2004. https://doi.org/10.1128/JCM.00400-12
21. Meyer Sauteur PM, Unger WW, Nadal D, Berger C, Vink C, van Rossum A. Infection with and Carriage of Mycoplasma pneumoniae in Children. Front Microbiol. 2016; 7: 329.https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00329
22. Carrim M, Wolter N, Benitez AJ, Tempia S, du Plessis M, Walaza S, et al. Epidemiology and Molecular Identification and Characterization of Mycoplasma pneumoniae, South Africa, 2012–2015. Emerging infectious diseases. 2018; 24(3): 506. https://doi.org/10.3201/eid2403.162052
23. Chaudhry R, Valavane A, Sreenath K, Choudhary M, Sagar T, Shende T, et al. Detection of Mycoplasma pneumoniae and Legionella pneumophila in Patients Having Community-Acquired Pneumonia: A Multicentric Study from New Delhi, India. Am J Trop Med Hyg. 2017; 97(6): 1710-6. https://doi.org/10.4269/ajtmh.17-0249
24. Al-Ghizawi GJ, Al-Sulami AA, Al-Taher SS. Profile of community- and hospital-acquired pneumonia cases admitted to Basra General Hospital, Iraq. East Mediterr Health J. 2007; 13(2): 230-42.
25. Talkington DF, Thacker WL, Keller DW, Jensen JS. Diagnosis of Mycoplasma pneumoniaeInfection in Autopsy and Open-Lung Biopsy Tissues by Nested PCR. Journal of clinical microbiology. 1998; 36(4): 1151-3.
26. Zhang Y, Mei S, Zhou Y, Yang D, Pan T, Chen Z, Wang Q. TIPE2 negatively regulates mycoplasma pneumonia-triggered immune response via MAPK signaling pathway. Scientific reports. 2017; 7(1): 13319.
27. Sharifi S, Ghotaslo R, Aki MT, Soroush MH, Ansarian Kh, Shabanpour J, et al. Identification of respiratory infections caused by Mycoplasma pneumoniae With three methods of cultivation, ELISA and PCR . Medical journal of Tabriz University. 2011; 33(3): 36-41.
28. Dash S, Chaudhry R, Dhawan B, Dey AB, Kabra SK, Das BK. Clinical spectrum and diagnostic yields of

Mycoplasma pneumoniae as a causative agent of community-acquired pneumonia. J Lab Physicians. 2018; 10(1): 44-49. https://doi.org/10.4103/JLP.JLP_62_17

29. Zhou Y, Zhang Y, Sheng Y, Zhang L, Shen Z, Chen Z. More complications occur in macrolide-resistant than in macrolide-sensitive Mycoplasma pneumoniae pneumonia. Antimicrobial agents and chemotherapy. 2014; 58(2): 1034-8. https://doi.org/10.1128/AAC.01806-13

30. Morozumi M, Hasegawa K, Kobayashi R, Inoue N, Iwata S, Kuroki H, et al. Emergence of macrolide-resistant Mycoplasma pneumoniae with a 23S rRNA gene mutation. Antimicrobial agents and chemotherapy. 2005; 49(6): 2302-6. https://doi.org/10.1128/AAC.49.6.2302-2306.2005

31. Xiao L, Ptacek T, Osborne JD, Crabb DM, Simmons WL, Lefkowitz EJ, et al. Comparative genome analysis of Mycoplasma pneumoniae. BMC Genomics. 2015; 16(1): 610. https://doi.org/10.1186/s12864-015-1801-0