



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

Iman Pouladi¹, Mohsen Taheri¹, Mohammad Niakan^{1*}, Reza Mirnejad², Ghasem Azimi³

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. Department of Internal Diseases, Shahid Mostafa Khomeini 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 pneumoniae* 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 genus and species level.

Keywords: *Mycoplasma pneumoniae*, 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 pneumoniae* 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



فراوانی مایکوپلازما 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^۲

۱. گروه میکروبیولوژی، دانشکده 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

چکیده

اطلاعات مقاله

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

مواد و روش کار: 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 (۱۴ درصد) پرگنه مربوط به مایکوپلازما در محیط PPLO Agar ایزوله شد. با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ۱۷ نمونه (۱۷ درصد) از نظر جنس مایکوپلازما و ۶ نمونه (۶ درصد) از نظر وجود گونه مایکوپلازما پنومونیه مثبت گزارش شد.

نتیجه‌گیری: نتایج این تحقیق نشان داد، برای شناسایی مایکوپلازما پنومونیه در بین مبتلایان به عفونت‌های دستگاه تنفسی، روش مولکولی PCR بطور معنی داری نسبت به کشت از حساسیت بالاتری برخوردار 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: مایکوپلازما پنومونیه، واکنش زنجیره پلیمرز، کشت، عفونت‌های تنفسی

تاریخچه مقاله
دریافت: ۱۳۹۷/۰۲/۳۱
پذیرش: ۱۳۹۷/۱۱/۲
انتشار آنلاین: ۱۳۹۷/۱۲/۲۵
موضوع:
باکتری‌شناسی پزشکی
IJMM1397;12(6): 382-389
نویسنده مسئول:

محمد نیاکان

گروه میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

پست الکترونیک:

niakan@shahed.ac.ir

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

مقدمه

خستگی و بدحالی ممکن است در افراد وجود داشته باشد و گفته می‌شود این افراد از پنومونی (Walking) رنج می‌برند (۵، ۸، ۹). مایکوپلازما 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 ۴۰ درصد موارد پنومونی اکتسابی از جامعه را ایجاد می‌کند (۱۰، ۱۳، ۱۴). باکتری‌های جنس مایکوپلازما فاقد دیواره سلولی هستند و در انسان

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 معمولاً علائم و نشانه‌های تراکتوبرونشیت (تب تا ۳۹/۵ درجه، لرز، بدحالی، گلودرد، آبریزش از بینی، سردرد و سرفه‌های خشک) را نشان می‌دهند (۵-۷). پنومونی آتیپیک معمولاً شدید نیست، اما

حساسی همانند روش‌های مولکولی PCR بسیار حائز اهمیت است که به بررسی دقیق میزان شیوع پنومونی ناشی از مایکوپلازما پنومونیه کمک می‌کند؛ لذا هدف از این مطالعه، بررسی میزان فراوانی مایکوپلازما 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، در مجموع ۱۰۰ نمونه سواب گلو از بیماران مشکوک به عفونت‌های مایکوپلازما پنومونیه، شامل تمامی بیمارانی که دارای علائم بالینی عفونت تنفسی مانند ضعف و بی‌حالی، خستگی، سردرد و سرفه خشک پایدار، تنگی نفس، اسهال، وجود خلط و درد عضلانی بودند، زیر نظر 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 عبور دادن از فیلتر ۰/۴۵ میکرومتر داخل محیط اصلی PPLO Broth (pH = 7/8 ± 0/2) انتقال داده و در شرایط CO₂ ۱۰-۵ درصد به مدت 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 CO₂ ۱۰-۵ درصد به مدت ۱۰-۷ روز در ۳۷°C انکوبه شدند. در این مطالعه سوپیه استاندارد مایکوپلازما پنومونیه (ATCC: 29342) است که از مرکز تحقیقات بیولوژی مولکولی پژوهشکده سیستم بیولوژی دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله (عج) تهیه شد.

استخراج DNA از نمونه‌ها

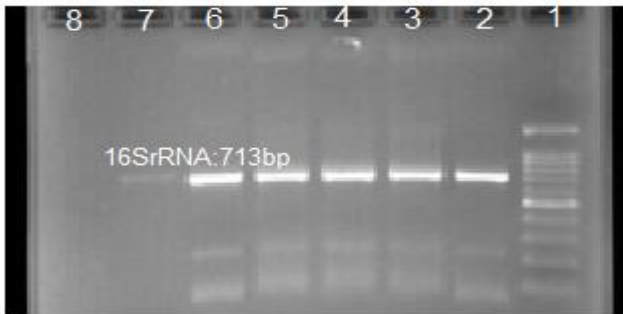
پس از کشت نمونه‌های بالینی در محیط مایع PPLO broth برای استخراج DNA از محیط‌های مایع PPLO برای نمونه‌های بالینی داخل آنها کشت داده شده بودند از کیت Roche استفاده شد که بعد از انجام مراحل استخراج DNA نمونه‌ها تا زمان انجام PCR در دمای ۲۰°C نگهداری شدند.

راه‌اندازی روش مولکولی

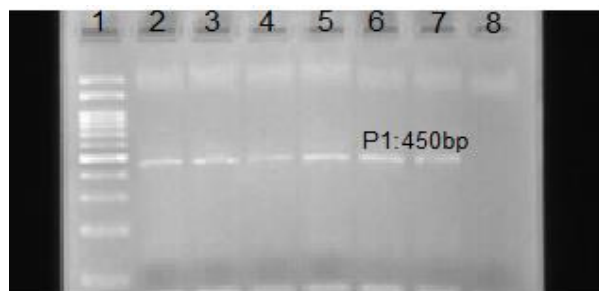
برای شناسایی جنس مایکوپلازما (ژن-16S rRNA) از پرایمرهای اختصاصی RP: 5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAGT-3 و FP: 5'-TGCACCATCTGTCTACTCTGTAAACCTC-3 با طول قطعه (bp) ۷۱۳ و همچنین برای شناسایی مایکوپلازما پنومونیه (ژن-PI) از پرایمرهای

بیماری‌های مختلفی را ایجاد می‌کنند (۱۵،۱۶). از بین مایکوپلازماها، گونه مایکوپلازما پنومونیه رایج‌ترین گونه مایکوپلازما مسبب بیماری‌های انسانی از جمله عفونت آتیپیک ریوی، عفونت مفصل و سایر عفونت‌ها است (۸،۱۵،۱۶،۱۸). پنومونی ناشی از مایکوپلازما پنومونیه با تظاهرات مکرر خارج ریوی (انسفالیت، نوریت نور، سوزش حاد، سکتۀ مغزی، فلج عصب جمجمه و مننژیت آسپتیک) همراه است (۱۹). گزینه‌های درمانی برای عفونت‌های مایکوپلازما پنومونیه، ماکرولیدها (MLs)، تتراسایکلین‌ها و فلوروکینولون‌ها هستند (۲۰). مایکوپلازما پنومونیه منجر به بیماری تنفسی و پنومونی با شیوعی در حدود ۲ تا ۳۵ درصد، بسته به روش شناسایی، دوره مطالعه و جمعیت تحت مطالعه می‌شود. داده‌ها از ۲۱ کشور نشان داد که مایکوپلازما پنومونیه به‌عنوان شایع‌ترین نوع باکتری مسبب پنومونی آتیپیک بوده که مسئول ایجاد حدود ۱۲ درصد 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 (۷ درصد) با PCR (ژن PI) مثبت گزارش شد (۲۳). همچنین طی یک دوره ۱۸ ماهه، 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 (۴۳/۹ درصد) و پس از آن مایکوپلازما پنومونیه (۱۹/۴ درصد) بودند (۲۴). مطالعه‌ای در ایالات متحده نشان داد که ۵۰ درصد پنومونی در کودکان و ۳۵ درصد در بزرگسالان به‌علت دو عامل ویروسی و مایکوپلازما پنومونیه رخ می‌دهد و همچنین مطالعه‌ای در ژاپن نشان داد که ۲۶/۸ درصد از کودکان مبتلا به پنومونی از نظر وجود مایکوپلازما پنومونیه مثبت بودند (۱۰). پیش‌بینی شده است که بیماری‌های ناشی از پاتوژن‌های تنفسی در ایالات متحده تا ۲۰ درصد می‌رسد و تقریباً ۵۰۰،۰۰۰ نمونه از پنومونی‌های اکتسابی از جامعه را شامل می‌شوند که هر ساله باید در ایالات متحده بستری شوند و ۳۵ درصد پنومونی‌های سرپایی و ۱۸ درصد از موارد پنومونی که نیاز به بستری دارند، از طریق مایکوپلازما پنومونیه ایجاد می‌شود (۲۵). شیوع پنومونیه ناشی از مایکوپلازما پنومونیه در داخل کشور براساس مطالعه Sharifi و همکاران در شهر تبریز (۶ درصد) است (۲۷). با توجه به مطالعات محدودی در ایران که مبتنی بر روش‌های کشت و سرولوژیک بوده و همچنین مطالعاتی که براساس روش‌های مولکولی انجام شده بسیار محدود و کم است. در نتیجه انجام مطالعات بیشتر با استفاده از روش‌های دقیق و

مایکوپلاسما پنومونیه مانند خستگی ۶۳ درصد، ضعف و بی حالی ۴۸ درصد، سردرد ۵۰ درصد، سرفه خشک پایدار ۳۴ درصد، سرفه خلطدار ۶۱ درصد، تهوع و استفراغ ۲۱ درصد بودند. تمام بیمارانی که از نظر وجود ژن *PI* (گونه مایکوپلاسما پنومونیه) مثبت گزارش شدند، دارای این تظاهرات بالینی بودند.



شکل ۲. نتیجه آزمون PCR برای جنس مایکوپلاسما - 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 - ژن PI : 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 *PI* گونه مایکوپلاسما پنومونیه

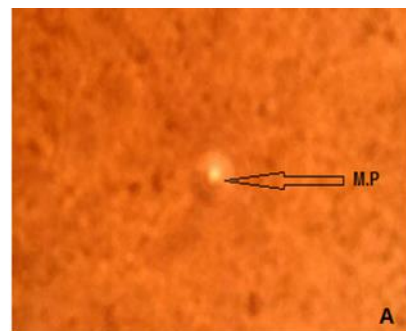
محصول PCR مربوط به ژن *PI* گونه مایکوپلاسما پنومونیه برای تعیین توالی به یک شرکت معتبر در خارج از کشور ارسال شد. با مشخص شدن توالی و بلاست کردن توالی مدنظر در محیط NCBI، مطابقت محصول PCR تعیین توالی شده با ژن *PI* گونه مایکوپلاسما پنومونیه با شباهتی بیش از ۹۸ درصد تأیید شد که در شکل ۴ نشان داده شده است.

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

پس از BLAST کردن پرایمرهای انتخاب شده، حساسیت و اختصاصیت آنها در سایت NCBI تأیید شد و واکنش PCR با حجم نهایی ۲۵ μl طبق پروتکل، Pre Denaturation ۹۴°C برای ۵ دقیقه، ۳۵ سیکل شامل Denaturation ۹۴°C 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 به مدت ۵ دقیقه برای گونه مایکوپلاسما پنومونیه صورت گرفت. در پایان محصولات واکنش PCR در مقایسه با سویه استاندارد مایکوپلاسما پنومونیه (ATCC: 29342) الکتروفورز شد.

یافته‌ها

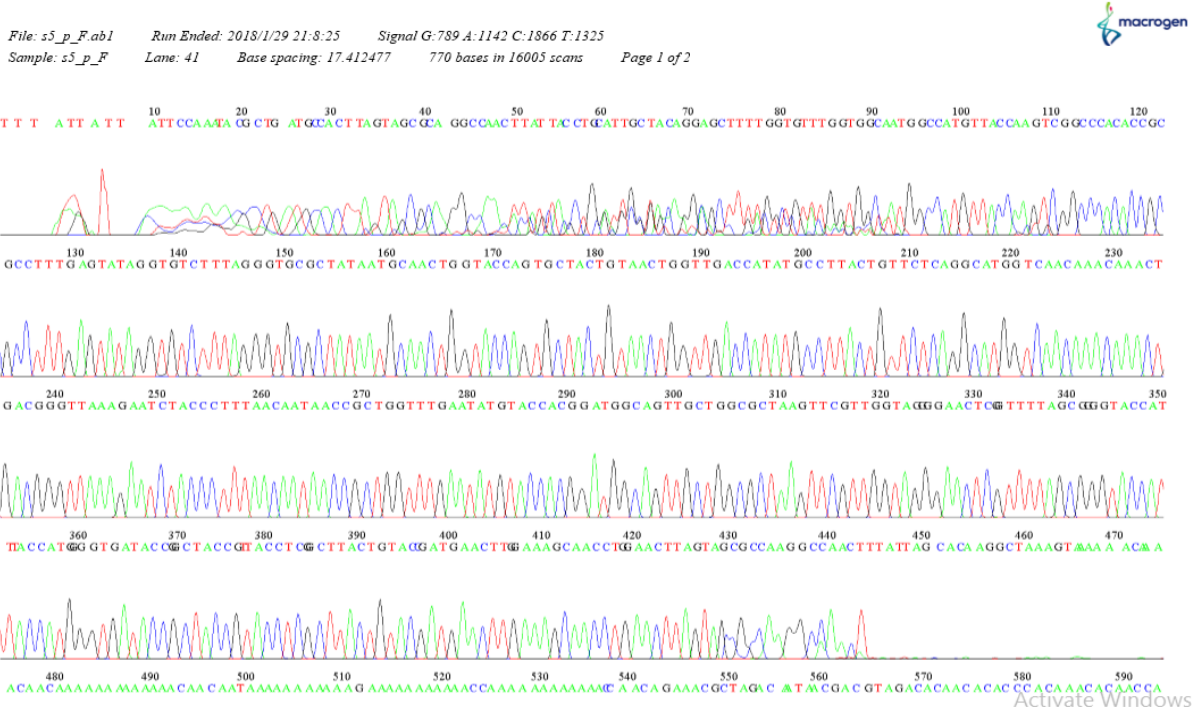
مطالعه حاضر روی ۱۰۰ بیمار مبتلا به عفونت‌های تنفسی صورت گرفته است که ۴۸ مورد (۴۸ درصد) از آنها مرد و ۵۲ مورد (۵۲ درصد) از آنها زن بودند و محدوده سنی بیماران حداقل ۱۷ سال و حداکثر ۸۵ سال و میانگین سنی بیماران (۵۳٫۶۲) سال بود. نتایج مطالعه حاضر مشخص کرد که از نمونه‌های جمع‌آوری شده، ۱۴ عدد (۱۴ درصد) دارای 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 گونه مایکوپلاسما پنومونیه

نتایج PCR برای تعداد ۱۰۰ نمونه بالینی سواب گلو نشان داد که ۱۷ نمونه از لحاظ جنس مایکوپلاسما (ژن 16SrRNA) مثبت بوده و ۶ نمونه دارای (ژن *PI*) 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



شکل ۴. توالی حاصل از تعیین توالی محصول PCR ژن PI گونه مایکوپلازما پنومونیه

بحث و نتیجه‌گیری

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

در مطالعه حاضر از ۱۰۰ نمونه جمع‌آوری شده، ۱۴ نمونه (۱۴ درصد) از لحاظ کشت و ۱۷ نمونه (۱۷ درصد) از نظر جنس و همچنین ۶ نمونه (۶ درصد) از نظر گونه مایکوپلازما پنومونیه مثبت گزارش شد که نشان‌دهنده آمار نسبتاً پایین آلودگی با مایکوپلازما پنومونیه در بیماران مبتلا به پنومونی است. البته این تنها تحقیقی نیست که وجود مایکوپلازما پنومونیه را در بیماران مبتلا به عفونت‌های تنفسی گزارش می‌کند، بلکه طی مطالعه Dash و همکاران از مجموع ۱۳۰ بیمار، ۱۸ بیمار (۱۴ درصد) با هر آزمونی برای مایکوپلازما پنومونیه مثبت گزارش شده است که از این ۱۸ بیمار در ۹ بیمار (۵۰ درصد) آزمون کشت و در ۵ بیمار

(۲۷/۷ درصد) تست PCR مثبت گزارش شده است (۲۸) که با نتایج حاصل از این مطالعه همخوانی ندارد و اختلاف اندکی وجود دارد. در مطالعه Wentu Xu و همکاران، اطلاعات اولیه بیماران SARI (severe acute respiratory infection) همراه با نمونه گلو یا سرم جمع‌آوری شد. ۵۸۵ نمونه SARI جمع‌آوری شد که میزان شیوع عفونت پنومونی ناشی از مایکوپلازما پنومونیه طی این مطالعه (۱۹/۶۶ درصد، ۵۸۵/۱۱۵)، است که نسبت به مطالعه حاضر شیوع بیشتری دارد. همچنین طی مطالعاتی در ایالات متحده نشان داده شده است که ۵۰ درصد پنومونی در کودکان و ۳۵ درصد در بزرگسالان به علت هر دو عامل ویروسی و مایکوپلازما پنومونیه رخ می‌دهد و مطالعه‌ای در ژاپن نشان داده که ۲۶/۸ درصد از کودکان مبتلا به پنومونی از نظر وجود مایکوپلازما پنومونیه مثبت بوده‌اند (۱۰). مایکوپلازما 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 مایکوپلازما پنومونیه ایجاد می‌شود (۱۰، ۳۱). طی مطالعه Sharifi و همکاران که روی ۲۰۰ بیمار در شهر تبریز انجام گرفت، میزان شیوع پنومونی ناشی از مایکوپلازما پنومونیه (۶ درصد) گزارش شد (۲۷) که با نتایج حاصل از این مطالعه همخوانی دارد. طی

مربوط به گونه میکوپلازما پنومونیه (۶درصد) را در بیماران مبتلا به عفونت‌های تنفسی با سرعت و دقت تشخیص داده و این نتایج نشان‌دهنده 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 گونه میکوپلازما پنومونیه، دیگر گونه‌های میکوپلازما در دستگاه تنفسی حضور دارند که باید شناسایی شده و در کانون توجه قرار گیرند. نکته دیگری که اهمیت فراوانی دارد، این است که براساس نتایج به‌دست‌آمده از این مطالعه، فراوانی بیماران مبتلا به عفونت‌های تنفسی ناشی از میکوپلازما پنومونیه (۶درصد) بوده که این حاکی از آن است که علاوه بر میکوپلازما 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 میکوپلازما 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 سوئیچ استاندارد میکوپلازما 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.

مطالعات صورت‌گرفته، شیوع عفونت پنومونی ناشی میکوپلازما پنومونیه در هند (۷درصد) است (۲۳) که با مطالعه حاضر اختلاف اندکی دارد. طبق تحقیقاتی که در کشورهای دیگر انجام شده، عفونت تنفسی میکوپلازما 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، دوره مطالعه و جمعیت مورد مطالعه متفاوت است (۲۱،۲۲). فراوانی و شیوع پنومونی ناشی از میکوپلازما پنومونیه در این مطالعه (۶درصد) بوده که این فراوانی نسبت به کشورهایمانند لهستان ۵۲درصد، آمریکا ۲۷درصد و ۲۹/۵درصد، دانمارک ۸درصد و کشورهای آسیای شرقی (۲۰-۴۰درصد) کمتر است (۲۸) که با مطالعه حاضر همخوانی ندارد. فراوانی عفونت پنومونی ناشی از میکوپلازما پنومونیه در این پژوهش نسبت به کشورهای (ترکیه ۱۶/۲درصد)، (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 گونه میکوپلازما پنومونیه در آنها از طریق روش مولکولی PCR مثبت شدند، دارای علائم بالینی عفونت تنفسی مانند (ضعف و بی‌حالی، خستگی، سردرد و سرفه خشک پایدار، تنگی نفس، اسهال، وجود خلط و درد عضلانی) بودند. همچنین با توجه به اینکه محصول PCR تعیین‌توالی شده، نتایج دقیقی را ارائه داده است. براساس نتایج این مطالعه، روش مولکولی PCR ژن *16SrRNA* مربوط به جنس میکوپلازما (۱۷درصد) و ژن *PI*

PloS one. 2017; 12(5): e0177842.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0177842>

References

- Amirian S, Amini K, Parviz M. Identification of *Mycoplasma Pneumonia* Isolated from the Respiratory Secretions 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.
- 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>
- 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>
- 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>
- Topley and wilson's microbiology and microbial infections(10th edition) W.G.Mertz, R.J.Hay.London. Hodder Arnold.2017 .
- 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, Chlamydia, 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/air.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 Sauter 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 pneumoniae Infection 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 pneumoniae-triggered immune response via MAPK signaling pathway. *Scientific reports*. 2017; 7(1): 13319.
27. Sharifi S, Ghotaslou 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>