

تعیین شیوع بوردتلا پرتوسیسی و لژیونلا پنوموفیلا در بیماران با تشخیص پنومونیا در بیمارستان شهید بهشتی یاسوج به وسیله کشت و Multiplex PCR

سیده مریم محمدی نسب^۱، سید عبدالمجید خسروانی^۲، فرشید کفیل زاده^۱، البرز جهانگیری سیسخت^۱،
رضا محمدی^۳، رضا عباسی^۴

^۱ گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد جهرم، جهرم، ایران، ^۲ گروه میکروب شناسی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران، ^۳ مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران، ^۴ گروه اطفال، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۳/۱۶

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۱۰/۱۹

چکیده

زمینه و هدف: پنومونیای تنفسی یک عفونت شایع می باشد که عوامل متعددی در ایجاد آن دخالت دارند. هدف این مطالعه تعیین میزان شیوع بوردتلا پرتوسیسی و لژیونلا پنوموفیلا در بیماران با تشخیص پنومونیا در بیمارستان شهید بهشتی یاسوج به وسیله کشت و Multiplex PCR بود.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، پس از بیماریابی و تکمیل پرسشنامه تعداد ۱۲۶ نمونه خلط جمع آوری شده و جهت تمام نمونه ها رنگ آمیزی گرم، کشت و PCR انجام گرفت. نمونه ها پس از انتقال به آزمایشگاه به دو قسمت تقسیم شدند. حدود ۱ سی سی از نمونه ها جهت انجام Multiplex PCR در لوله اپندرف ریخته شده و باقی مانده بلافاصله جهت انجام کشت و رنگ آمیزی گرم مورد استفاده قرار گرفتند. داده ها با آزمون های مجذور کای تجزیه و تحلیل شدند.

یافته ها: از میان نمونه ها، ۳۵/۷ درصد مرد و ۶۴/۳ درصد زن بودند و میانگین سنی آنها ۴۴ سال بود. نتایج کشت برای بوردتلا پرتوسیسی و لژیونلا پنوموفیلا منفی شد. با روش PCR لژیونلا پنوموفیلا در ۱۳ نفر (۱۰ درصد) و بوردتلا پرتوسیسی در ۱ نفر (۸ درصد) شناسایی شدند.

نتیجه گیری: با توجه به نتایج به دست آمده از این مطالعه و موارد مثبت می توان به اهمیت پنومونیای ناشی از این باکتری ها در منطقه مورد پژوهش پی برد و به لحاظ اینکه PCR یک روش سریع در تشخیص پنومونیا می باشد، استفاده از این روش می تواند نتایج خوبی در درمان پنومونیا قبل از اتلاف وقت داشته باشد.

واژه های کلیدی: بوردتلا پرتوسیسی، لژیونلا پنوموفیلا، سیاه سرفه، پنومونیا، Multiplex PCR

*نویسنده مسئول: دکتر سید عبدالمجید خسروانی، یاسوج، دانشگاه علوم پزشکی، دانشکده پزشکی، گروه میکروب شناسی

Email: khosravani2us@yahoo.com

مقدمه

بیمارستانی می‌باشد. مهم‌ترین بیماری‌های ناشی از این باکتری، بیماری لژیونلا و تب پونتیاک است که یک بیماری شبه آنفلوآنزای خود محدود شونده می‌باشد. باکتری مسئول حدود ۲ تا ۱۵ درصد از موارد پنومونیای اکتسابی از جامعه است و از طریق ذرات تنفسی که به هر طریق از منابع آب انتشار می‌یابند منتقل می‌شود و سیستم تنفسی را درگیر می‌کند. محیط‌های بیمارستانی از حیث ایجاد زمینه رشد، سیستم انتقال ذرات آلوده به افراد در معرض خطر، مکانی با پتانسیل بالا جهت رشد و شیوع این عامل می‌باشد (۳). تکنیک استاندارد برای شناسایی این باکتری محیط کشت اختصاصی BCYE است ولی با توجه به اینکه این باکتری رشد بسیار آرامی دارد، لذا دقت در ایزوله‌های تهیه شده و رعایت اصول کشت از عوامل مهم در شناسایی آن می‌باشد و هر گونه اشکال در مراحل آماده‌سازی نمونه‌های کشت ممکن است منجر به عدم رشد و تشخیص آن شود. همچنین روش‌های دیگری مثل جستجوی آنتی‌بادی به دلیل اینکه پس از ورود عامل بیماری‌زا تا زمان تولید آنتی‌بادی زمان نسبتاً زیادی نیاز دارد و ممکن است عوارض ایجاد شود پس نیاز به روشی مناسب و سریع جهت تشخیص بیماری ضروری است. با توجه به اهمیت کلینیکی باکتری روش PCR در صورتی که به‌طور صحیح انجام شود. دارای سرعت و حساسیت بالایی بوده و می‌تواند بیماری را در مراحل اولیه تشخیص دهد و همچنین می‌تواند بیماران بدون علائم را شناسایی کند. این روش در مورد نمونه‌هایی که

بوردتلا پرتوسیسی یک باکتری گرم منفی و هوازی اجباری است که عامل بیماری سری سیاه سرفه است که با وجود واکنش‌های گسترده هنوز هم موارد متعددی از بیماری گزارش می‌شود و دلایل متعددی از جمله عدم کارایی واکسن، نقص در انجام کامل واکنش‌های ایمنی پس از انجام واکسن با گذشت زمان و جهش‌های ژنتیکی می‌تواند وجود داشته باشد. باکتری عامل بیماری، پاتوژن انحصاری انسان می‌باشد و تعدادی فاکتور بیماری‌زا تولید می‌کند که در بیماری‌زایی دخالت دارند (۱). این بیماری علاوه بر نوزادان در میان بزرگسالان نیز اتفاق می‌افتد و به فرم برونشیت حاد و پنومونیا دیده می‌شود، همچنین به عنوان مخزن انتقال به اطفال به شمار می‌رود. متأسفانه علی‌رغم اهمیت این بیماری به دلیل مسری بودن و محدودیت در تشخیص آزمایشگاهی اطلاعات محدودی از شیوع آن در ایران در دسترس می‌باشد و مطالعات اندکی در این رابطه انجام شده است، بنابراین شناسایی این بیماری جهت جلوگیری از عواقب خطرناک آن از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (۲).

لژیونلا پنوموفیلا یک کوکوباسیل گرم منفی، مقاوم به اسید، بدون اسپور و هوازی مطلق است. پس از شیوع لژیونلا در سال ۱۹۷۶ موارد زیادی از جداسازی لژیونلا در پنومونی‌های اکتسابی از جامعه و بیمارستان وجود داشته است. باکتری لژیونلا پنوموفیلا یکی از عوامل شایع در بروز عفونت‌های

گردید، نمونه‌ها پس از انتقال به آزمایشگاه به دو قسمت تقسیم شدند. حدود ۱ سی سی از نمونه‌ها جهت انجام Multiplex PCR در لوله اپندرف در ۷۰- درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و باقی‌مانده بلافاصله جهت انجام کشت و رنگ‌آمیزی گرم مورد استفاده قرار گرفت. نمونه‌های تهیه شده بر روی محیط‌های اختصاصی هر دو باکتری، برده ژانگو(حاوی ۴۰ میکروگرم بر میلی لیتر سفالکسین و ۱۵ درصد خون گوسفند) و BCYE(حاوی آنتی‌بیوتیک‌های ونکومایسین و پلی میکسین B) به ترتیب برای بوردتلا پرتوسیسی و لژیونلا پنوموفیلا برده شدند و در انکوباتور قرار داده شدند. پلیت‌ها پس از سه روز مشاهده شدند و در صورت عدم رشد تا ۱۴ روز مورد بررسی قرار گرفتند. برای همه نمونه‌ها رنگ‌آمیزی گرم به صورت مستقیم از نمونه خلط صورت گرفت و لام‌ها از نظر وجود کوکوباسیل‌های گرم منفی بررسی شدند.

جهت انجام آزمایش Multiplex PCR، ابتدا برای کم کردن و زدودن مهار کننده‌ها نمونه‌های خلط را با بافر فسفات سالتین شستشو داده شده و با دور ۱۲۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شدند و محتویات باقی‌مانده لوله اپندرف برای ادامه آزمایش مورد استفاده قرار گرفتند. سپس با استفاده از کیت استخراج DNA باکتری عرضه شده به وسیله شرکت سیناژن، استخراج مطابق دستورالعمل کیت انجام شد. پرایمر مورد استفاده برای باکتری لژیونلا پنوموفیلا از ژن Mip (Macrophage infectivity potentiator) است که

دارای ارگانیزم بوده اما نتیجه کشت آنها منفی است از اطمینان بالایی برخوردار است(۴).

با توجه به مشکلات ذکر شده امروزه از روش Multiplex PCR (واکنش زنجیره‌ای پلی‌مران چند گانه) به عنوان یک روش مکمل و سریع برای تشخیص حتی یک باکتری استفاده می‌شود. از مهم‌ترین دلایلی که باعث توجه به این باکتری‌ها در محیط‌های بیمارستانی شده است، وجود افراد آسیب‌پذیر در این مکان‌ها می‌باشد. اگر چه هر فردی می‌تواند در معرض بیماری‌زایی این باکتری‌ها قرار گیرد، اما افراد بستری شده در بیمارستان‌ها که دارای بیماری‌های مزمن ایمنی مانند مبتلایان به سرطان، بیماران دیالیزی، مبتلایان به دیابت و ایدز و کسانی که پیوند کلیه شده‌اند و به طور کلی افرادی که سطح ایمنی آنها تضعیف شده است، بیشتر در معرض خطر هستند(۵).

روش‌های کشت و واکنش زنجیره‌ای پلی‌مران چند گانه روش‌های تشخیصی مهمی هستند که به طور مستقیم قادر به تشخیص آلودگی هستند و در این تحقیق اساس کار را تشکیل می‌دهند(۶). هدف این مطالعه تعیین شیوع بوردتلا پرتوسیسی و لژیونلا پنوموفیلا در بیماران با تشخیص پنومونیا در بیمارستان شهید بهشتی یاسوج به وسیله کشت و Multiplex PCR بود.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی طی یک سال ۱۳۶ نمونه خلط از بیماران مشکوک به ذات‌الریه جمع‌آوری

مصرف می‌کردند و ۴۴ نفر (۳۵ درصد) علیه بوردتلا پرتوسیسیس واکسینه نشده بودند.

بر اساس نتایج حاصله، ۱۳ نفر (۳/۱۰ درصد) دارای بیماری با عاملیت لژیونلا پنوموفیلا و ۱ نفر (۸/۰ درصد) دارای بیماری با عاملیت بوردتلا پرتوسیسیس بودند. نتایج نشان داد، بین جنسیت و ابتلا به ذات الریه برای هر کدام از باکتری‌ها ارتباط معنی‌داری وجود نداشت ($P > 0.05$).

در خصوص بوردتلا پرتوسیسیس ۱ مورد مثبت در PCR، بر روی محیط رشد نکرد. همچنین در مورد لژیونلا نیز هیچ کدام از نمونه‌های مثبت به وسیله کشت جداسازی نگردید.

محصول واکنش Multiplex PCR انجام شده بر روی ژل الکتروفورز در تصویر ۱ نشان داده شده است.

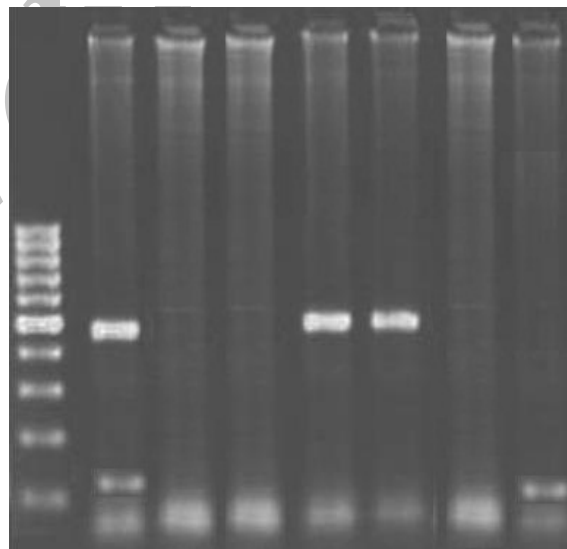
راندمان عفونت را افزایش می‌دهد و برای بقای باکتری و تهاجم بسیار اهمیت دارد. همچنین پرایمر بوردتلا از سکانس الحاقی IS481 استفاده می‌شود که برای بقای گسترده باکتری حائز اهمیت است. واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز چند گانه با استفاده از پرایمرهای ذکر شده و رژیم PCR انجام شده و محصولات آن با استفاده از ژل آگارز ۱/۵ درصد الکتروفورز شدند.

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون آماری مجذور کای تجزیه و تحلیل می‌شوند.

یافته‌ها

از میان ۱۲۶ نمونه مورد مطالعه، ۸۱ نفر (۳/۶۲ درصد) زن و ۴۵ نفر (۷/۳۷ درصد) مرد بودند میانگین سنی آنان ۴۴ سال بود. ۶۱ نفر (۴/۴۸ درصد) دخانیات

M 1 2 3 4 5 6



نمودار ۱: محصول الکترو فورز واکنش PCR نمونه‌ها بر روی ژل برای باکتری‌های بوردتلا پرتوسیسیس و لژیونلا پنوموفیلا.

M مارکر ۱۰۰ bp، شماره ۱ کنترل مثبت برای ۲ باکتری، شماره ۲ کنترل منفی، ۳ و ۶ نمونه‌های کلینیکی منفی، ۴ و ۵ نمونه‌های کلینیکی مثبت برای لژیونلا پنوموفیلا و ۷، نمونه کلینیکی مثبت برای بوردتلا پرتوسیسیس

بحث

مصرف آنتی‌بیوتیک در بیماران باشد که در عدم رشد باکتری تأثیر به‌سزایی داشته و می‌تواند در نتایج آزمایش‌های باکتری‌شناسی به منظور شناسایی عامل بیماری‌زا، اختلال ایجاد کند (۸ و ۷). در این مطالعه ۱ مورد مثبت پرتوسیسی، مربوط به افراد بین ۲۵-۲۰ سال دیده شد، در مقالات بیان شده که بزرگسالان مخزن عفونت می‌باشند که این امر به دلیل کاهش ایمنی بدن بر اثر گذشت زمان، واکسیناسیون و همچنین فقدان علائم اختصاصی بیماری در بزرگسالان و در نتیجه عدم شناسایی بیماری در این گروه سنی می‌باشد. در کشورهای مختلف میزان جداسازی این باکتری از طریق کشت، آمار متغیری بین ۵۰-۴ درصد دارد. در این بررسی میزان جداسازی به وسیله کشت صفر درصد می‌باشد که دلایل آن همان‌طور که گفته شد می‌تواند ناشی از عدم تشخیص به موقع بیماری به خصوص در بزرگسالان و در نتیجه ارجاع دیر هنگام بیمار به آزمایشگاه، عدم نمونه‌گیری صحیح، تأخیر در ارسال نمونه و عدم رعایت شرایط کشت باشد (۱۰). تشخیص آزمایشگاهی بوردتلا پرتوسیسی به عنوان عامل مولد بیماری سیاه سرفه می‌تواند مزایای فراوانی داشته باشد که از جمله آنها تخمین این بیماری در کشور، بهبود و پیشرفت در نمونه‌گیری و تشخیص بیماری است. علی‌رغم سخت رشد بودن و حساسیت فوق‌العاده این

روش‌های کشت و واکنش زنجیره‌ای پلیمران چندگانه روش‌های تشخیصی مهمی هستند که به طور مستقیم قادر به تشخیص آلودگی‌های میکروبی هستند (۶). هدف این مطالعه تعیین شیوع بوردتلا پرتوسیسی و لژیونلا پنوموفیلا در بیماران با تشخیص پنومونیا در بیمارستان شهید بهشتی یاسوج به وسیله کشت و Multiplex PCR بود. در این مطالعه ۱۰ درصد نمونه‌ها آلوده به لژیونلا پنوموفیلا بودند که می‌توان با تشخیص سریع از گسترش عفونت در افراد ضعیف ممانعت کرد. برای جدا کردن لژیونلا از نمونه‌های بالینی به وسیله کشت، محدودیت‌هایی وجود دارد که از جمله آنها دوره انکوباسیون طولانی است. ناتوانی روش‌هایی که هم‌اکنون برای تشخیص لژیونلا در دسترس است، موجب شده تا عفونت لژیونلایی به طور کامل تشخیص داده نشده و درمان آن هم با مشکل مواجه شود. ردیابی مولکولی با استفاده از PCR موجب تشخیص مطمئن و سریع بیماری می‌شود. چندین مطالعه، حساسیت این روش را ۱۰۰ درصد گزارش کرده‌اند. در مطالعه حاضر ۱۳ نمونه مثبت به وسیله PCR شناسایی گردید که نتیجه کشت منفی داشتند و نشان دهنده حساسیت بالای PCR نسبت به کشت بود و توانایی بیشتری نسبت به کشت در تشخیص لژیونلا دارد که نتایج تحقیق حاضر نیز این مورد را تأیید می‌کند. یک علت عدم شناسایی لژیونلا از محیط کشت می‌تواند

باکتری به شرایط محیطی از قبیل خشکی، آزمایش کشت هم‌چنان به عنوان استاندارد طلایی در تشخیص این باکتری به شمار می‌رود، اما حساسیت کمی دارد که می‌تواند دلایل متعددی داشته باشد که یکی از آنها می‌تواند مصرف آنتی‌بیوتیک قبل از انجام آزمایش باشد (۹ و ۱۰).

امروزه پوشش واکسیناسیون در ایران ۹۹ درصد می‌باشد. با توجه به طغیان مجدد بیماری در سطح جهانی و دلایلی که ذکر شد شاید بتوان گفت که در کشور ایران نیز مواردی چون واکسیناسیون ناقص افراد، تغییرات ژنتیکی سویه‌ها و احتمال متفاوت بودن سویه‌هایی که اخیراً باعث بیماری شده‌اند با سویه‌های مورد استفاده در واکسن و هم‌چنین ناقل بودن افراد بزرگسال بر اثر کم شدن ایمنی نسبت به این باکتری با گذشت زمان از عوامل مهم ایجاد این بیماری در افراد واکسینه شده است (۱۱ و ۱۰).

بنابراین با توجه به مشکلات مربوط به این بیماری در کشور و نیز حساسیت پایین روش کشت در تشخیص بوردتلا پرتوسیسیس به عنوان یک باکتری مهم در این زمینه، استفاده از روش‌های ملکولی از جمله روش PCR در تشخیص سریع و به موقع این باکتری ضروری می‌باشد. مطالعات صورت گرفته در کشور ایران در مورد بوردتلا پرتوسیسیس و لژیونلا پنوموفیلا اندک می‌باشد و در منطقه نیز چنین مطالعه‌ای صورت نگرفته است. در مورد پرتوسیسیس نیز مطالعات بیشتر بر روی کودکان و

نوزادان انجام شده است، ولی در مطالعه حاضر همه گروه‌های سنی مورد بررسی قرار گرفت، زیرا وجود باکتری در بزرگسالان که به صورت پنومونیا بروز می‌کند می‌تواند برای نوزادان خطرناک باشد (۱۰).

لاسمن و همکاران در سال ۲۰۰۸، ۵ عامل باکتریایی پنومونیای تنفسی را به وسیله PCR در ۱۰۳ نفر بررسی کردند که ۳۵ درصد آلوده به استرپتوکوکوس پنومونیا، صفر درصد آلوده به پرتوسیسیس و ۱ درصد آلوده به لژیونلا بودند و هم‌چنین PCR را روشی سریع‌تر از سایر روش‌ها مثل کشت معرفی کردند که قادر به تشخیص بیماری است (۱۲).

می‌توان نتیجه گرفت که روش‌های مولکولی خصوصاً PCR، نسبت به کشت روش مناسب‌تری برای تشخیص لژیونلا پنوموفیلا و بوردتلا پرتوسیسیس به حساب آمده و به صورت موفقیت‌آمیزی می‌تواند باکتری‌ها را از نمونه‌های بالینی با حساسیت و سرعت بالایی تشخیص دهد. حساسیت این روش، به خصوص در روزهای اول بیماری، بسیار بالا است و سلول‌های مرده و زنده را از طریق PCR تشخیص می‌دهد. نتایج این روش، در کمتر از یک روز و ظرف ۱۵ ساعت به دست می‌آید (۷).

به علت متفاوت بودن درمان در باکتری‌های فوق، علی‌رغم وجود علائم بالینی نسبتاً مشابه و هم‌چنین به علت عوارض جانبی که این عوامل

مورد پژوهش پی برد و از آنجا که اغلب علایم شبیه سرماخوردگی معمولی می‌باشد و اینکه باکتری‌های مختلف علایم تقریباً مشابه ایجاد می‌کنند، می‌توان به اهمیت تشخیص سریع به وسیله روش‌های پیشرفته مانند PCR و درمان به موقع و پیشگیری از شیوع عفونت پی برد.

تقدیر و تشکر

این مطالعه حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد میکروب شناسی مصوب دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم بود که با همکاری دانشگاه علوم پزشکی یاسوج انجام شد.

می‌توانند ایجاد کنند انجام آزمایش‌های و مشخص نمودن عامل اصلی بیماری تأثیر زیادی در جلوگیری از ایجاد مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی و در نهایت کوتاه شدن دوره درمان و رضایت‌مندی بیمار و جلوگیری از گسترش بیماری‌های تنفسی در سطح جامعه خواهد داشت، بنابراین همه این عوامل می‌تواند توجیه کننده این باشد که علی‌رغم گران بودن PCR در مقایسه با هزینه درمان و بستری و شاید در کل هزینه کمتری صرف شود. همچنین بررسی‌ها نشان می‌دهد که انجام تست‌های بیوشیمیایی و کشت به تنهایی قادر به تشخیص نخواهد بود و به تأیید روش‌های پیشرفته مثل روش‌های مولکولی نیاز است که در پژوهش حاضر نیز با توجه به منفی بودن کشت برای برخی نمونه‌های مثبت تأیید شده به وسیله PCR این فرضیه تأیید می‌شود که عدم تشخیص به موقع ممکن است عوارض غیر قابل جبرانی به دنبال داشته باشد (۱۰ و ۷).

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به دست آمده از مطالعات می‌توان به اهمیت پنومونیای تنفسی در منطقه

REFERENCES:

1. Smith AM, Guzman CA, Walker MJ. The virulence factors of *Bordetella pertussis*: a matter of control. FEMS Microbiol Rev 2001; 25: 309-33.
2. Hallander HO, Gnarp J, Olin P. *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae* and persistent cough in children Scand. J Infect Dis 1999; 31: 281-6.
3. leoni E, Legnani PP. Comparison of selective Procedures for isolation and enumeration of legionella species fro hot water systems. Journal of Applied Microbiology 2001; 90: 27-33.
4. Den Boer JW, Yzerman EP. Diagnosis of Legionella infection in Legionnaires' disease. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2004; 23(12): 871-8.
5. Fiume L, Bucca Sabatini MA, Poda G. Detection of Legionella pneumophila in water samples by species-specific real-time and nested PCR assays. Applied Microbiology 2005; 41: 470-5.
6. Erin A, McDonough, Christopher P, Barrozo, Kevin L. russell, david metzgar, molecular and cellular probes. a multiplex pcr for detection of *mycoplasma pneumoniae*, *chlamydia pneumoniae*. *Legionella Pneumophila And Bordetilla Pertussis In Clinical Specimens* 2005; 19: 314-22.
7. Mir kalantari Sh, Mohebati mobarez A, Hosseini S R, Aslani J. Separation of legionella from BAL samples in patients with legionellosis. Jour of Modares Uni 2004; 9(6): 65-74
8. Maiwald M, Helbig JH, Luck PC. Laboratory methods for the dignosis of Legionella infection. J Microbiol Methods 1998; 33: 59-79.
9. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Pertussis--United States, 2001-2003. Morb Mortal Wkly Rep 2005; 54(50): 1283-6.
10. Shahcheragh F, Nakhost lotfi M, Sadat nikbin V, Shorej F, Zahraee SM. Separation of B.pertussis and B. parapertussis in Iran. Jour of Mazandaran Medical Uni 2007; 22: 2-8.
11. Aguas R, Goncalves G, Gomes MG. Pertussis: increasing disease as a consequence of reducing transmission. Lancet Infect Dis 2006; 6(2): 112-7.
12. Lassmann B, Marc poetschke, bonito ninteretse, saadou issifou, stefan winkler, peter g. kremsner, wolfgang graninger, and petra apfalter. community-acquired pneumonia in children in lambarene, Gabon *Am J Trop Med Hyg* 2008; 79(1): 109-14.
13. Azizi F. Epidemiology and control of common diseases in Iran. Eshtiyagh Issue, 2004.

Prevalence of *Bordetella Pertussis*, and *Legionella Pneumophila* in Patients with Pneumonia Diagnosis in Shahid Beheshti Hospital by Culture and Multiplex PCR

Mohammadinasab M¹, Khosravani A^{2*}, Kafilzade F¹, Jahangirisakht A², Mohammadi R³, Abasi R⁴

¹Department of Microbiology, Islamic Azad University, Jahrom, Iran, ²Department of Microbiology, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran, ³Plant Medicine Research Center, Yasuj University of Medical sciences, Yasuj, Iran, ⁴Department of Pediatric, Yasuj University of Medical sciences, Yasuj, Iran

Received: 09 Jun 2013 Accepted: 06 Jun 2013

Abstract

Background & aim: Respiratory pneumonia is a common infection which interferes with several cases. The aim of this study was to determine the incidence of *B. pertussis*, and *Legionella pneumophila* in patients diagnosed with pneumonia in Shahid Beheshti Hospital by Multiplex PCR and culture.

Methods: In this experimental study, after finding patients and completing the questionnaires, 126 samples of sputum were collected from the patients. The samples were transported to the laboratory and divided in two parts. Approximately 1 ml of the samples were used for Multiplex PCR and the remainder were used for culture and Gram stain immediately. Data were analyzed using chi square tests.

Results: Out of the 126 samples, 35.7 %were male, 64% were female, and the mean age was 44 years. The culture results of *B.pertussis* and *L.pneumophila* were negative. However, the results of PCR showed that *L.pneumophila* in 13 patients (10%) and *B.pertussis* in one patient (0.8%) were detected respectively.

Conclusion: Due to positive results obtained in this study, the importance of pneumonia caused by these bacteria can be realized in the research area. As the PCR is one of the rapid methods for the diagnosis of pneumonia. Use of this technique can have good results in the treatment of pneumonia before wasting time.

Key words: *B.pertussis*, *L.pneumophila*, PCR, Respiratory Pneumonia

Corresponding Author: Khosravani A, Department of Microbiology, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran

E-mail: khosravani2us@yahoo.com