Archive of SID

Medical Science Journal of Islamic Azad University Vol. 29, No.4, Winter 2019 ORIGINAL ARTICLE

[DOI: 10.29252/iau.29.4.313]

Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir at 14:02 +0330 on Tuesday January 21st 2020

The prevalence of *Mycoplasma pneumoniae* infection in patients with ventilator-associated pneumonia hospitalized in intensive care unit

Shirin Mafi[1], Fatemeh Sakhaee[2], Mohsen Zargar[3], Farzam Vaziri[2], Masoud Zarei[4], Fatemeh Rahimi Jamnani[2], Seyed Davar Siadat[2], Abolfazl Fateh[2]

[1]Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
[2]Department of Mycobacteriology and Pulmonary Research, Microbiology Research Center (MRC), Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran
[3]Faculty of Science, Qom Branch, Islamic Azad University, Qom, Iran
[4]Molecular Laboratory of Erfan Niyayesh Hospital, Tehran, Iran

Abstract

Background: Ventilator-associated pneumonia (VAP) is a type of hospital acquired pneumonia with the mortality rate between 27% and 76% that develops more than 48–72 h after endotracheal intubation. Possible causes leading to this infection can be *Mycoplasma pneumoniae*. The objective of this study was to determine the presence of *Mycoplasma pneumoniae* in bronchoalveolar samples of patients with VAP who admitted in the intensive care unit (ICU).

Materials and methods: In this cross-sectional study, 103 bronchoalveolar lavage samples were collected from VAP patients who admitted to ICU in Loghman, Erfan Niyayesh and Erfan Hospitals. Then, samples were investigated for presence of *Mycoplasma pneumoniae* using nested-PCR method with 16S rRNA gene.

Results: 4 (3.9%) patients were positive for *Mycoplasma pneumoniae*. There was a significant relationship between the positive infectious agents with clinical signs (P=0.017) and the duration of using ventilator (P=0.043).

Conclusion: The results of this study, as a first study in Iran, showed that *Mycoplasma pneumoniae* can be considered as true pathogens of the respiratory tract in patients with VAP and should be given more attention. To confirm the results of this study, further research is needed to reveal the association of this bacterium with VAP.

Keywords: *Ventilator-associated pneumonia, Mycoplasma pneumoniae, 16S rRNA gene.*

Cited as: Mafi SH, Sakhaee F, Zargar M, Vaziri F, Zarei M, Rahimi Jamnani F, et al. The prevalence of Mycoplasma pneumoniae infection in patients with ventilator-associated pneumonia hospitalized in intensive care unit. Medical Science Journal of Islamic Azad University, Tehran Medical Branch 2019; 29(4): **313-321.**

Correspondence to: Abolfazl Fateh
Tel: *+9821 64112823*
E-mail: afateh2@gmail.com
ORCID ID: 0000-0002-2043-8523
Received: 20 May 2018; **Accepted:** 3 Sep 2018

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.29252/iau.29.4.313]
Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir at 14:02 +0330 on Tuesday January 21st 2020

مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی
دوره ۲۹، شماره ۴، زمستان ۹۸، صفحات ۳۱۳ تا ۳۲۱

Original Article

شیوع عفونت مایکوپلاسما پنومونیه در بیماران مبتلا به پنومونی مرتبط با ونتیلاتور بستری در بخش مراقبت‌های ویژه

شیرین مافی[۱]، فاطمه سخایی[۲]، محسن زرگر[۳]، فرزام وزیری[۲]، مسعود زارعی[۴]، فاطمه رحیمی جمنانی[۲]، سید داور سیادت[۲]، ابوالفضل فاتح[۲]

[۱]گروه زیست‌شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
[۲]گروه میکروب شناسی، بخش سل و تحقیقات ریوی، مرکز تحقیقات میکروب‌شناسی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران
[۳]گروه میکروب‌شناسی، واحد قم، دانشگاه آزاد اسلامی، قم، ایران
[۴]کارشناسی ارشد، آزمایشگاه مولکولی بیمارستان عرفان نیایش، تهران، ایران

چکیده

سابقه و هدف: *پنومونی مرتبط با ونتیلاتور (VAP) نوعی پنومونی بیمارستانی با میزان مرگ و میر ۷۶-۲۷ درصد است که بعد از ۴۸ تا ۷۲ ساعت پس از لوله‌گذاری تراشه ایجاد می‌شود. از عوامل ایجادکننده این عفونت می‌توان به مایکوپلاسما پنومونیه اشاره کرد. هدف از این مطالعه تعیین فراوانی مایکوپلاسما پنومونیه در نمونه‌های شستشوی برونش بیماران مبتلا به VAP بستری در بخش مراقبت‌های ویژه (ICU) بود.*

روش بررسی: *در این مطالعه مقطعی، ۱۰۳ نمونه شستشوی برونش مبتلایان به VAP بستری در ICU بیمارستان‌های لقمان، عرفان و عرفان نیایش جمع‌آوری شد و از لحاظ وجود باکتری مایکوپلاسما پنومونیه به روش nested-PCR با استفاده از ژن هدف 16S rRAN ارزیابی شدند.*

یافته‌ها: *تعداد ۴ (۳/۹ ٪) بیمار مبتلا به مایکوپلاسما پنومونیه مثبت گزارش شدند. ارتباط معنی‌داری میان مثبت بودن عامل عفونی با علایم بالینی (P=۰/۰۱۷) و مدت‌زمان استفاده از ونتیلاتور (P=۰/۰۴۳) مشاهده شد.*

نتیجه‌گیری: *نتایج حاصل از این مطالعه برای اولین بار در ایران نشان داد که مایکوپلاسما پنومونیه می‌تواند به‌عنوان پاتوژن واقعی دستگاه تنفسی در بیماران مبتلا به VAP مطرح باشد و باید بیشتر مورد توجه قرار گیرد. برای تائید نتایج حاصل از این مطالعه لازم است تحقیقات بیشتری صورت گیرد تا ارتباط این باکتری با VAP نشان داده شود.*

واژگان کلیدی: *پنومونی مرتبط با ونتیلاتور، مایکوپلاسما* پنومونیه، ژن S rRAN۱۶.

مقدمه

بیماران بستری در بخش مراقبت‌های ویژه (ICU) نه تنها از بیماری اصلی خود، بلکه معمولاً توسط عوارض ثانویه مانند عفونت‌های بیمارستانی نیز در معرض خطر مرگ و میر هستند. پنومونی بیمارستانی یک عفونت رایج در بیماران بستری در ICU است که ۲۷٪ از بیماران را تحت تأثیر قرار می‌دهد و عامل ۸۶٪ از این موارد، پنومونی مرتبط با ونتیلاتور است (۱).

بر طبق دستورالعمل انجمن بیماری‌های عفونی و بیماری‌های قفسه سینه آمریکا (IDSA/ATS: Infectious Diseases Society of America /American Thoracic Society)، پنومونی مرتبط با ونتیلاتور (VAP) یک نوع پنومونی بیمارستانی است که بعد از ۴۸ تا ۷۲ ساعت پس از لوله‌گذاری تراشه ایجاد می‌شود (۲). عموماً، VAP در ۲۸٪ از بیمارانی که متصل به ونتیلاتور هستند رخ می‌دهد، درحالی‌که میزان بروز

آدرس نویسنده مسئول: انستیتوپاستورایران، بخش سل و تحقیقات ریوی، گروه میکروب شناسی ، ابوالفضل فاتح (**email**: afateh2@gmail.com)
ORCID ID: 0000-0002-2043-8523
تاریخ دریافت مقاله: ۹۷/۱۲/۲۵
تاریخ پذیرش مقاله: ۹۸/۲/۲۱
www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.29252/iau.29.4.313]
Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir at 14:02 +0330 on Tuesday January 21st 2020

آن با مدت‌زمان استفاده با ونتیلاتور متغیر است. میزان بروز VAP برای ۵ روز اول ۳٪، برای روزهای ۶ تا ۱۰ به میزان ۲٪ و برای بعد از روز دهم ۱٪ تخمین زده شده است (۳).
میزان مرگ و میر VAP بین ۲۷ تا ۷۶ درصد است. میزان مرگ و میر در بیماران مبتلا به VAP بیشتر در عفونت با سودموناسها و همچنین استنتیوباکتر بومانی دیده می‌شود (۴). ازآنجایی‌که بستری در ICU مستلزم هزینه بالای بیمارستانی است و به دلیل اینکه VAP باعث اقامت طولانی‌مدت در ICU می‌شود، بنابراین پیشگیری از VAP می‌تواند مدت‌زمان بستری در ICU و همچنین مصرف منابع و هزینه‌های بعدی را کاهش دهد (۵).
علاوه بر باکتری‌های شایع در ایجاد VAP، باکتری‌های غیرمعمول دیگری ممکن است در ایجاد این عفونت نقش داشته باشند. ازجمله باکتری‌های غیر شایع می‌توان به مایکوپلاسما پنومونیه، لژیونلا پنوموفیلا و کلامیدیا پنومونیه اشاره داشت (۶).
مایکوپلاسماها کوچک‌ترین باکتری‌های عفونی شناخته‌شده در انسان هستند. طول تقریبی آنها ۲-۱ میکرومتر و عرض ۰/۲-۰/۱ میکرومتر است. عدم وجود دیواره سلولی، این ارگانیسم‌ها را چندشکلی نشان می‌دهد و باعث مقاوم شدن این باکتری‌ها در برابر آنتی‌بیوتیک‌های مؤثر بر دیواره سلولی مانند پنی‌سیلین‌ها می‌شود (۷). علت بسیاری از ویژگی‌های بیولوژیک و همچنین نیاز این باکتری به مکمل‌های محیطی پیچیده که برای کشت این ارگانیسم در شرایط آزمایشگاهی لازم است، ژنوم کوچک مایکوپلاسما و قابلیت‌های بیوسنتزی محدود آن است (۸).
بیش از ۲۰۰ گونه مایکوپلاسما در انسان، حیوانات، گیاهان و بندپایان شناسایی‌شده است، اما تنها تعداد کمی از آنها برای انسان بیماری‌زا هستند که از شناخته‌شده‌ترین آن‌ها می‌توان به مایکوپلاسما پنومونیه اشاره داشت (۹). این باکتری اولین بار در سال ۱۹۴۴ از کشت خلط یک بیمار مبتلا به پنومونی جدا شد و در ابتدا عامل ایتون (Eaton) نامیده شد و در سال ۱۹۶۰ مشخص شد که عامل این پنومونی مایکوپلاسما پنومونیه است (۱۰). پنومونی ناشی از مایکوپلاسما پنومونیه عموماً خفیف است و می‌تواند بدون علامت باشد و یا اینکه فرد مبتلا دارای پنومونی شدید، کم‌خونی، گرفتار شدن سیستم عصبی و یا ضایعات پوستی باشد (۸).
از آنجایی که علایم بالینی بیماران مبتلا مایکوپلاسما پنومونیه تفاوت چندانی با بیماران مبتلا به سایر عوامل عفونی تنفسی مانند کلامیدیا پنومونیه ندارد، تشخیص به‌موقع این گروه از عفونت‌ها ضروری به نظر می‌رسد (۱۱). به خاطر اینکه کشت مایکوپلاسما پنومونیه دشوار است و در بیشتر آزمایشگاه‌های بالینی به ۳ تا ۴ هفته نیاز دارد و با توجه به محدودیت‌های سرولوژی به دلیل وجود نتایج مثبت کاذب (۱۲)، درنتیجه تشخیص مستقیم و سریع این باکتری در نمونه‌های بالینی با استفاده از روش‌های مولکولی انجام می‌شود. در حال حاضر روش‌های مبتنی بر PCR روش انتخابی برای تشخیص این باکتری است (۱۳).
مطالعات نشان داده‌اند که استفاده از ژن کد کننده rRNA (rDNA) برای شناسایی این باکتری مناسب به نظر می‌رسند. به همین منظور، برای تشخیص مایکوپلاسما پنومونیه، از *16S rRNA* به‌عنوان منطقه مخصوص شناسایی کننده گونه در روش PCR استفاده می‌شود (۱۴، ۱۵). مزیت استفاده از توالی‌های *16S rRNA* سطح بالای مناطق حفاظت‌شده و همچنین وجود مناطق بسیار متغیر متعلق به گونه است. به همین علت، به‌منظور تعیین تصمیمات مناسب و پیگیری‌های درمانی، به‌ویژه در کشورهایی که فراوانی بالای گونه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک را دارند، شناسایی نشانگرهای مناسب برای تمایز بین عوامل ایجادکننده پنومونی باکتریایی و ویروسی از ارزش زیادی برخوردار خواهد بود (۱۶). همچنین به دلیل مقادیر کم این عوامل عفونی، استفاده از روش‌های مولکولی با حساسیت بالا مانند nested-PCR ضروری است (۱۷).
ازآنجایی‌که تاکنون در ایران مطالعه‌ای به بررسی مایکوپلاسما پنومونیه در بیماران VAP نپرداخته است و با توجه به اهمیت باکتری‌های ایجادکننده پنومونی غیر شایع در بروز پنومونی، این مطالعه بر آن شد تا به بررسی وجود مایکوپلاسما پنومونیه در بیماران مبتلا به VAP بستری در ICU سه بیمارستان لقمان، عرفان و عرفان نیایش را در تهران بپردازد.

مواد و روشها

جمع‌آوری نمونه

مطالعه حاضر یک مطالعه مقطعی است که در آن تعداد ۱۰۳ بیمار مبتلا به VAP بستری در بیمارستان لقمان (۴۱ بیمار) به عنوان بیمارستان دولتی و بیمارستان‌های خصوصی عرفان (۳۰ بیمار) و عرفان نیایش (۳۲ بیمار) از شهریورماه ۹۵۱۳ تا آذرماه ۱۳۹۶ بر اساس معیارهای ورود

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.29252/iau.29.4.313]
Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir at 14:02 +0330 on Tuesday January 21st 2020

(بیماران بستری در بخش ICU که متصل به دستگاه تهویه مکانیکی بودند و پنومونی را در مدت‌زمان بیش از ۴۸ ساعت نشان داده بودند) و معیارهای خروج (شامل بیماران مبتلا به پنومونی قبل از اتصال به دستگاه تهویه مکانیکی و افرادی که پنومونی را در حین ۴۸ ساعت نشان داده بودند) انتخاب شدند. پس از اخذ رضایت نامه آگاهانه از بیماران، نمونه‌های شستشوی برونش بیماران گرفته شد و پس از انتقال به ظروف استریل به انستیتو پاستور ایران منتقل و در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. همچنین مطالعه فوق در کمیته اخلاق انستیتو پاستور با شماره IR.PII.REC.1394.54 به تصویب رسید. تمامی اطلاعات دموگرافیک از قبیل سن، جنس و علائم بالینی از پرونده بیماران استخراج شدند.

تکثیر ژن *16S rRNA* جهت شناسایی مایکوپلاسما پنومونیه

جهت استخراج DNA مایکوپلاسما پنومونیه، از کیت DNG-Plus شرکت سینا کلون استفاده شد و با توجه به دستورالعمل کیت، DNA استخراج گردید. جهت شناسایی مایکوپلاسما پنومونیه از روش nested-PCR بر طبق مطالعه Han و همکاران استفاده شد (۱۷). به‌طور خلاصه، واکنش مرحله اول توسط پرایمرهای (F:5'-AAGGACCTGCAAGGGTTCGT-3') و (R:5'-CTCTAGCCATTACCTGCTAA-3') طبق برنامه دمای واسرشت اولیه ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت پنج دقیقه و به دنبال آن دمای واسرشت ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۰ ثانیه، دمای اتصال پرایمر ۶۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۰ ثانیه، دمای بسط ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه برای ۴۰ بار و دمای بسط نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی-گراد به مدت ۷ دقیقه انجام شد. حجم نهایی واکنش PCR برابر با ۲۵ میکرولیتر شامل ۲ میکرولیتر از DNA الگو، ۱ میکرولیتر از هر پرایمر ۱۰ پیکومول و ۱۲/۵ میکرولیتر از محلول Master Mix 2x شرکت سینا کلون (شامل 0.08 units/µl *Taq* DNA polymerase, 3 mM MgCl2, 0.4 mM dATP, 0.4 mM dCTP, 0.4 mM dGTP and 0.4 mM dTTP.) استفاده شد و جهت به حجم رساندن، از آب دو بار تقطیر استریل استفاده شد. واکنش PCR مرحله دوم توسط پرایمرهای (F:5'-CTCTAGCCATTACCTGCTAA-3') و (R:5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAGTA-3') طبق برنامه و مواد مصرفی استفاده‌شده در مرحله اول صورت گرفت، با این تفاوت که دمای اتصال پرایمر این مرحله ۶۰ درجه سانتی‌گراد بود. در این مطالعه از سویه استاندارد مایکوپلاسما پنومونیه ATCC 15531 استفاده شد. الکتروفورز محصول PCR بر روی ژل آگارز ۲ ٪ با ولتاژ ۹۰ آمپر به مدت ۴۵ دقیقه صورت پذیرفت. نتایج حاصل از الکتروفورز با استفاده از نور ماورا بنفش مورد ارزیابی قرار گرفت.

تحلیل داده‌ها

تحلیل آماری توسط نرم‌افزار آماری SPSS ورژن ۲۲ انجام شد. از آزمون کولموگروف اسمیرنوف برای تعیین نرمال بودن توزیع داده های کمی استفاده شد. جهت تحلیل متغیرهای پیوسته و متغیرهای طبقه‌بندی شده و کیفی، به ترتیب از آزمون‌های غیر پارامتری من ویتنی و آزمون کای اسکوئر یا فیشر استفاده شد. داده‌های با $P\leq 0.05$ ۰/۰۵ از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شدند.

یافته‌ها

از ۱۰۳ بیمار مورد بررسی، تعداد ۴۱ (۳۹/۸٪) بیمار در بیمارستان دولتی لقمان بستری بودند و ۳۲ (۳۱/۱٪) و ۳۰ (۲۹/۱٪) بیمار به ترتیب در بیمارستان‌های خصوصی عرفان نیایش و عرفان بستری بودند. میانگین سنی (± انحراف معیار) بیماران بستری در بیمارستان لقمان، عرفان نیایش و عرفان به ترتیب برابر با ۱۶/۲ ± ۶۳/۹ سال، ۱۷/۱ ± ۵۸/۸ سال و ۱۷/۸ ± ۵۸/۹ سال بود. در هر سه بیمارستان بیشتر بیماران مرد بودند و بیشترین بیماران بستری در بخش مراقبت‌های ویژه بیمارستان لقمان، بیماری قلبی (۳۴/۱٪)، در بیمارستان عرفان نیایش بیماری ریوی (۲۱/۸٪) و داخلی (۲۱/۸٪) و در بیمارستان عرفان عامل بستری بیماری مغزی (۲۶/۷٪) بود. اکثریت بیماران در هر سه بیمارستان کمتر از ۳۰ روز در بخش مراقبت‌های ویژه بستری بودند. در هر سه بیمارستان، سرفه و خس‌خس کردن، درد قفسه سینه و تنگی نفس، التهاب ریه و خلط و تب و لرز و التهاب گلو عمده علایم بالینی در بیماران بودند (جدول ۱).

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.29252/iau.29.4.313]
Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir at 14:02 +0330 on Tuesday January 21st 2020

جدول ۱. اطلاعات دموگرافیک بیماران میتلا به پنومونی ناشی از ونتیلاتور براساس بیمارستان

متغیر	دولتی	خصوصی		*P*-value
	بیمارستان لقمان (n = ۴۱)	بیمارستان عرفان نیایش (n = ۳۲)	بیمارستان عرفان (n = ۳۰)	
جنس				۰/۱۹۹
مرد	۳۰ (٪۷۳/۲)	۱۷ (٪۵۳/۱)	۲۰ (٪۶۶/۷)	
زن	۱۱ (٪۲۶/۸)	۱۵ (٪۴۶/۹)	۱۰ (٪۳۳/۳)	
میانگین سنی	۶۳/۹ ± ۱۶/۲	۵۸/۸ ± ۱۷/۱	۵۸/۹ ± ۱۷/۸	۰/۳۶۱
علت بستری در بخش ICU				۰/۴۹۷
بیماری داخلی	۷ (٪۱۷/۱)	۷ (٪۲۱/۸)	۴ (٪۱۳/۳)	
بیماری مغزی	۹ (٪۲۲)	۶ (٪۱۸/۸)	۸ (٪۲۶/۷)	
بیماری قلبی	۱۴ (٪۳۴/۱)	۶(٪۱۸/۸)	۵ (٪۱۶/۷)	
بیماری ریوی	۳ (٪۷/۳)	۷ (٪۲۱/۸)	۷ (٪۲۳/۳)	
جراحی	۸ (٪۱۹/۵)	۶ (٪۱۸/۸)	۶ (٪۲۰)	
مدت زمان بستری در ICU				۰/۱۷۹
کم‌تر از ۳۰ روز	۲۱ (٪۵۱/۲)	۲۰ (٪۶۲/۵)	۲۱ (٪۷۰)	
بیشتر از ۳۰ روز	۲۰ (٪۴۸/۸)	۱۲ (٪۳۷/۵)	۹ (٪۳۰)	
مدت زمان استفاده از دستگاه ونتیلاتور				۰/۱۶۴
کم‌تر از ۳۰ روز	۳۲ (٪۷۸)	۳۰ (٪۹۳/۸)	۲۶ (٪۸۶/۷)	
بیشتر از ۳۰ روز	۹ (٪۲۲)	۲ (٪۶/۳)	۴ (٪۱۳/۳)	
علائم بالینی				۰/۶۵۱
سرفه و خس خس کردن	۴۰ (٪۹۷/۶)	۳۰ (٪۹۳/۸)	۲۸ (٪۹۳/۳)	
درد قفسه سینه و تنگی نفس	۳۸ (٪۹۲/۷)	۲۹ (٪۹۰/۶)	۲۵ (٪۸۳/۳)	
التهاب ریه و خلط	۳۷ (٪۹۰/۲)	۲۷ (٪۸۴/۴)	۲۳ (٪۷۶/۷)	
تب و لرز و هموپتزی	۳۴ (٪۸۲/۹)	۲۲ (٪۶۸/۸)	۲۱ (٪۷۰)	
عفونت مایکوپلاسما پنومونیه				۰/۱۵۲
مثبت	۲ (٪۴/۹)	۱ (٪۳/۱)	۱ (٪۳/۳)	
منفی	۳۹ (٪۹۵/۱)	۳۱ (٪۹۶/۹)	۲۹ (٪۹۶/۷)	

جهت تائید وجود مایکوپلاسما پنومونیه در نمونه‌های بالینی از روش nested-PCR استفاده شد. طول محصول واکنش مرحله اول PCR برابر با ۲۷۷ جفت باز و مرحله دوم برابر با ۱۴۱ جفت باز بود (شکل ۱). از ۱۰۳ بیمار بررسی‌شده، ۴ (٪۳/۹) بیمار از لحاظ مایکوپلاسما پنومونیه مثبت شدند. از ۴ بیمار مبتلا به مایکوپلاسما پنومونیه، ۲ (٪۴/۹) بیمار در بیمارستان لقمان، ۱ (٪۳/۳) بیمار در بیمارستان عرفان و ۱ (٪۳/۱) بیمار در بیمارستان عرفان نیایش بستری بودند. از لحاظ آماری ارتباطی بین بیمارستان و مثبت بودن باکتری دیده نشد (p=۰/۱۵).

از ۴ بیمار مبتلا به مایکوپلاسما پنومونیه، ۲ بیمار (٪۵۰) مرد و ۲ بیمار (٪۵۰) زن بودند. از لحاظ آماری بین جنس بیماران و مثبت بودن باکتری، ارتباط دیده شد (p=۰/۰۳۵).

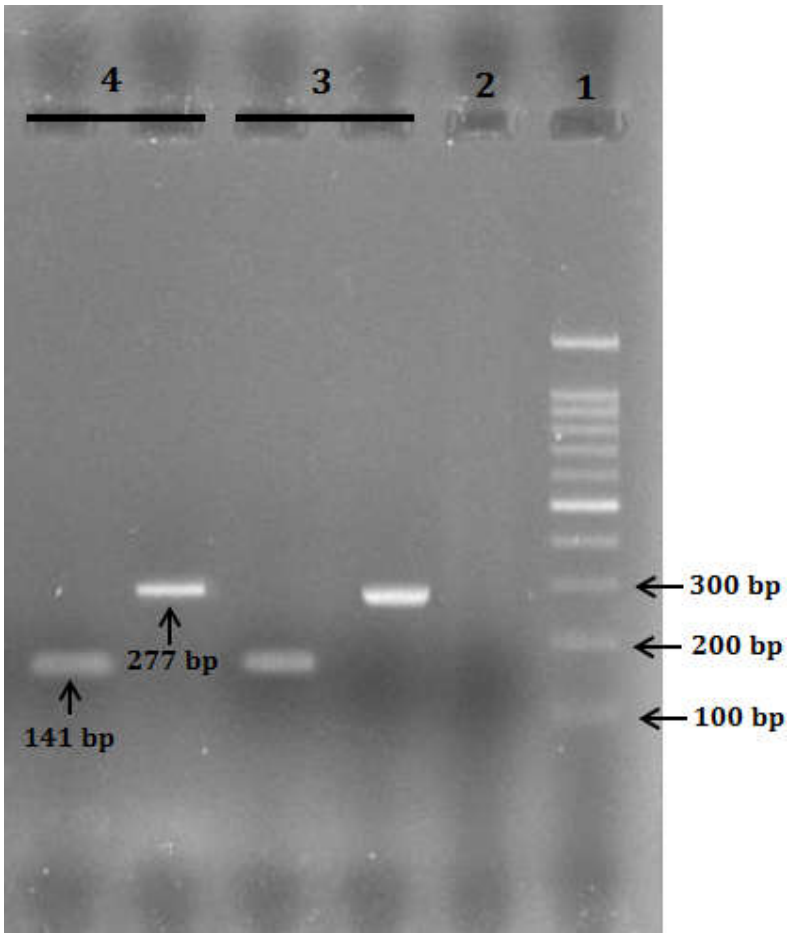
میانگین سنی بیماران (± انحراف معیار) در بیماران مبتلا به مایکوپلاسما پنومونیه برابر با ۶/۱۳ ± ۶۱/۵۰ سال و در بیماران منفی برابر با ۱۷/۲۹± ۶۰/۸۶ سال بود. از لحاظ آماری ارتباطی بین این باکتری و سن بیماران دیده نشد (p=۰/۶۲).

میانگین مدت بستری (± انحراف معیار) بیماران مبتلا به مایکوپلاسما پنومونیه بستری در ICU برابر با ۱۰/۶۸±۲۸/۷۵ روز و در بیماران منفی برابر با ۱۱/۴۳±۲۳/۳۸ روز بود. از لحاظ آماری بین این باکتری و مدت بستری درICU ارتباط آماری معنی‌دار دیده نشد(p=۰/۳۱). همچنین، میانگین (± انحراف معیار) مدت‌زمان استفاده از دستگاه ونتیلاتور در بیماران مبتلا به مایکوپلاسما پنومونیه برابر با ۵/۷۳±۲۸/۷۵ روز و در بیماران منفی برابر با ۹/۲۸±۱۷/۸۶ روز بود. بین باکتری و

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.29252/iau.29.4.313]
Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir at 14:02 +0330 on Tuesday January 21st 2020



شکل ۱. شناسایی مایکوپلاسما پنومونیه با استفاده از روش nested-PCR: چاهک شماره ۱ مارکر، چاهک شماره ۲ کنترل منفی، چاهک شماره ۳ نمونه مثبت مایکوپلاسما پنومونیه (باند ۲۷۷ جفت باز نشان دهنده محصول PCR مرحله اول و باند ۱۴۱ جفت باز نشان دهنده محصول PCR مرحله دوم است) و چاهک شماره ۴ نمونه کنترل مثبت از نظر مایکوپلاسما پنومونیه ATCC 15531

مدت‌زمان استفاده از دستگاه ونتیلاتور ارتباط آماری دیده شد (p=۰/۰۱۷).

از ۴ بیمار مبتلا به مایکوپلاسما پنومونیه، ۱ مورد از بیماران به دلیل جراحی، ۱ مورد به دلیل آسیب‌های مغزی، ۱ مورد به دلیل عفونت‌های ریوی و ۱ مورد به دلیل جراحی قلب بستری‌شده بودند. بین مایکوپلاسما پنومونیه و علت بستری در بخشICU از لحاظ آماری ارتباطی دیده نشد (p=۰/۵۵).

در ۴ بیمار مبتلا به مایکوپلاسما پنومونیه، علایم بالینی همچون سرفه و خس‌خس کردن، درد قفسه سینه و تنگی نفس گزارش شد. بین مایکوپلاسما پنومونیه و علایم بالینی ارتباط آماری معنی‌داری دیده شد (P=۰/۰۴۳).

بحث

بعد از عفونت ادراری، پنومونی بیمارستانی دومین عفونت شایع بیمارستانی است که عامل ۸۶٪ از این موارد به دلیل استفاده از ونتیلاتور است. خطر ابتلا به پنومونی در افرادی که در ICU متصل به دستگاه ونتیلاتور و متعاقب آن لوله‌گذاری هستند به‌طور معنی‌داری بالا می‌رود. مدت اقامت در ICU به دلیل بیماری VAP افزایش می‌یابد که مستلزم هزینه‌های درمانی بسیار بالا برای بیمار می‌شود، در نتیجه پیشگیری از این بیماری بیشتر اهمیت پیدا می‌کند. عوامل مهمی در ایجاد VAP نقش دارند که ازجمله آن می‌توان به تجمع باکتری‌های مهاجم در قسمت فوقانی مسیر تنفسی و به دنبال آن آسپیراسیون و انتقال این باکتری‌ها به قسمت‌های تحتانی اشاره داشت و همچنین به دلیل آنکه هنگام استفاده از ونتیلاتور مکانیکی نیاز به لوله تراشه است، این لوله می‌تواند

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.29252/iau.29.4.313]
Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir at 14:02 +0330 on Tuesday January 21st 2020

یکی از راه‌های اصلی انتقال باکتری‌ها به قسمت تحتانی دستگاه تنفسی باشد (۱, ۱۸).

علاوه بر باکتری‌های شایع ایجادکننده VAP مانند سودموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس اورئوس، چندین مطالعه شیوع باکتری‌های غیر شایع از قبیل لژیونلا پنوموفیلا، کلامیدیا پنومونیه و مایکوپلاسما پنومونیه را در ایجاد این بیماری مورد ارزیابی قرار داده‌اند (۶, ۱۹).

تا آنجا که ما بررسی کرده‌ایم، مطالعه حاضر برای اولین بار در ایران میزان فراوانی باکتری مایکوپلاسما پنومونیه را در بیماران VAP با استفاده از روش nested-PCR و پرایمرهای طراحی‌شده از ناحیه ژن *16S rRNA* مورد ارزیابی قرار داده است. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که از ۱۰۳ بیمار مورد بررسی تعداد ۴ نمونه (۳/۹٪) از لحاظ مایکوپلاسما پنومونیه مثبت تشخیص داده شدند. میزان شیوع این باکتری در مطالعه ما نسبت به مطالعات دیگر متفاوت بود، اما با شیوع این باکتری در بیماران مختلف در ایران مشابه بود. در مطالعه‌ای که موسویان و همکارانش انجام دادند، ۱۰۰ نمونه متعلق به بیمارانی که به بیمارستان امام خمینی اهواز مراجعه کرده بودند، جمع‌آوری شد و از لحاظ مایکوپلاسما پنومونیه مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه، میزان شیوع این باکتری ۲/۸٪ گزارش شد و در بین انواع گونه‌های مایکوپلاسما که در این بیماران جدا شد، وجود مایکوپلاسما پنومونیه به‌عنوان یک پاتوژن واقعی دستگاه تنفسی مطرح شد (۲۰).

در مطالعه Mokhless و همکارانش، نقش بالقوه باکتری‌های با شیوع کم‌تر از قبیل لژیونلا پنوموفیلا و مایکوپلاسما پنومونیه در ایجاد پنومونی مرتبط با ونتیلاتور مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور تعداد ۶۰ نمونه شستشوی برونش از بیماران بستری در بخش ICU فراهم و با استفاده از روش PCR به حضور این باکتری‌ها را مورد ارزیابی قراردادند. نتایج این مطالعه نشان داد که ۹(۱۵٪) بیمار مبتلا به مایکوپلاسما پنومونیه بودند (۶). در مطالعه Nolan و همکارانش، میزان شیوع مایکوپلاسماها در ۱۵۹ نمونه شستشوی برونش بیمار مشکوک به پنومونی مرتبط با ونتیلاتور بررسی شد. نمونه‌ها با استفاده از PCR مورد آزمایش قرار گرفتند. این مطالعه میزان شیوع ۴۹٪ را از گونه‌های مختلف مایکوپلاسما گزارش کرد (۲۱). علت این تفاوت می‌تواند به دلیل تفاوت در سطح بهداشت جامعه باشد. مطالعات نشان داده‌اند که در کشور مصر شیوع این باکتری در بیماران مختلف بستری در بیمارستان در همین محدوده است (۲۲). در مطالعه Apfalter و همکارانش با استفاده از روش real time-PCR میزان شیوع باکتری را ۳٪ گزارش کردند. نتیجه‌ای که حاصل شد این بود که این باکتری باید به‌عنوان عوامل ایجادکننده پنومونی مرتبط با بیماری‌های داخلی بیمارستانی در نظر گرفته شود؛ بنابراین، رژیم‌های ضدمیکروبی برای درمان پنومونی بیمارستانی باید شامل مایکوپلاسما پنومونیه نیز باشد. شایان ذکر است که آگاهی از علل بالقوه میکروبی در ایجاد پنومونی مرتبط با ونتیلاتور و تائید علت خاص آن در یک بیمار، برای درمان آنتی‌بیوتیکی امری ضروری است (۲۳).

اهداف ژنی متنوعی در روش PCR برای شناسایی مایکوپلاسما پنومونیه مورداستفاده قرارگرفته است. ازجمله اهداف پرکاربرد و مناسب برای تشخیص باکتری می‌توان به ژن *P1* و *16S rRNA* اشاره داشت. در مطالعات مختلف ژن *P1* را یک هدف مناسب برای PCR معرفی کرده‌اند. ازآنجایی‌که این ناحیه از ژنوم چندین بار در مایکوپلاسما پنومونیه تکرار می‌شود باعث افزایش حساسیت PCR جهت شناسایی این باکتری می‌شود (۱۴, ۲۴)؛ اما در مطالعات زیادی ناحیه *16S rRNA* را به‌عنوان هدفی مناسب جهت شناسایی باکتری مایکوپلاسما پنومونیه معرفی کرده‌اند. در مطالعه Zhou و همکاران پیشنهاد کردند که ژن *P1* ممکن است حساس‌تر از *16S rRNA* باشد، اما نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد به دلیل اینکه تعداد موارد مثبت هنگام استفاده از پرایمرهای *16S rRNA* بیشتر از *P1* بود، تکثیر ژن *16S rRNA* حساسیت بیشتری برای تشخیص مایکوپلاسما پنومونیه دارد (۱۴).

در مطالعه Akter و همکارانش نشان داده شد که علاوه بر باکتری‌های معمول، باکتری‌های غیرمعمول هم می‌توانند از عوامل ایجادکننده VAP باشند. در مطالعه آن‌ها ۱۳/۸۴ درصد موارد VAP با عفونت باکتری‌های غیر شایع مانند مایکوپلاسما پنومونیه و لژیونلا پنوموفیلا ارتباط داشتند و از این تعداد ۷/۷٪ از لحاظ مایکوپلاسما پنومونیه مثبت بودند. مطالعات دیگر در سایر کشورها، حضور چنین باکتری‌های غیرمعمول را در VAP گزارش داده است. میزان گزارش عفونت در مطالعات مختلف، از ۶/۶ درصد تا ۱۵ درصد با استفاده از روش‌های مولکولی بوده است (۱۹، ۲۷).

در مطالعه‌ای که Muir و همکارانش جهت شناسایی مایکوپلاسما پنومونیه انجام دادند، در ۴۰٪ موارد این باکتری می‌توانند باعث پنومونی شود، اما به دلیل مشکل بودن جداسازی این باکتری در بیماران مبتلا به پنومونی مرتبط با ونتیلاتور، عموماً این باکتری مورد ارزیابی قرار نمی‌گیرد (۲۵).

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.29252/iau.29.4.313]
Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir at 14:02 +0330 on Tuesday January 21st 2020

در این مطالعه از لحاظ آماری بین مثبت بودن نمونه‌ها و علائم بالینی ارتباط دیده شد. نمونه‌های مثبت متعلق به بیمارانی بودند که علائم بالینی همچون تب، تراکئوبرونشیت، علائم مجاری تنفسی فوقانی، سردرد، بی‌حالی، گلودرد، درد عضلانی، سرفه خشک و ناگهانی که با خلط (خلط زردرنگ و در بعضی مواقع بارگه‌های خون) همراه می‌شد را داشتند که با مطالعات دیگر کاملاً همخوانی دارد (۲۶, ۲۷).

پنومونی حاصل از مایکوپلاسما پنومونیه یک بیماری ملایم، شبه آنفولانزا و خود محدود شونده است و به علت بهبودی در یک دوره نسبتاً کوتاه ۲-۳ هفته‌ای، بیمار کمتر به پزشک مراجعه می‌کند و همچنین پزشکان با تجویز داروی اریترومایسین و یا آزیترومایسین بیمار را به‌راحتی درمان می‌نماید، در نتیجه پزشک جهت شناسایی این باکتری بیمار را کم‌تر به آزمایشگاه ارجاع می‌دهد. بااین‌حال، پایین بودن میزان جداسازی مایکوپلاسما پنومونیه در این بررسی در مقایسه با بعضی تحقیقات در ایران و یا در امریکا، می‌تواند به دلیل اختلاف در روش شناسایی باشد، زیرا که با استفاده از روش‌های سرولوژیکی در موارد یاد شده توانسته‌اند درصد بالاتری از مایکوپلاسما پنومونیه را شناسایی کنند (۲۴).

به نظر می‌رسد جهت مدیریت عفونت VAP، علاوه بر درمان اختصاصی باکتری‌های شایع باید باکتری‌های غیر شایع نیز مدنظر قرار گیرند. شناسایی دقیق باکتری‌های ایجادکننده VAP بسیار حائز اهمیت است؛ زیرا باعث کاهش مصرف آنتی‌بیوتیک‌های غیرضروری می‌شود و در نهایت کاهش هزینه‌های بهداشتی و درمانی می‌شود (۱۹).

نتایج حاصل از این مطالعه برای اولین بار در ایران شیوع و فراوانی پایین مایکوپلاسما پنومونیه در بیماران مبتلا به VAP را نشان داد و ارتباطی بین عفونت با این باکتری با این دسته از بیماران دیده نشد. سایر پژوهش‌های انجام‌شده در این زمینه، نشان داد مایکوپلاسما پنومونیه می‌تواند به‌عنوان پاتوژن واقعی دستگاه تنفسی، به‌خصوص در بیماران ریوی، مطرح باشد؛ اما برای اثبات ارتباط بین مایکوپلاسما پنومونیه با بیماری VAP لازم است مطالعات جامع‌تر با تعداد نمونه بیشتری صورت پذیرد.

تشکر و قدردانی

از تمامی کارکنان بیمارستان‌های عرفان، عرفان نیایش و لقمان که در جمع‌آوری نمونه ما را برای انجام این طرح تحقیقاتی یاری کرده‌اند، کمال تشکر را دارد.

REFERENCES

1. Kalil AC, Metersky ML, Klompas M, Muscedere J, Sweeney DA, Palmer LB, et al. Management of adults with hospital-acquired and ventilator-associated pneumonia: 2016 clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America and the American Thoracic Society. Clin Infect Dis 2016;63: 61-111.

2. Othman AA, Abdelazim MS. Ventilator-associated pneumonia in adult intensive care unit prevalence and complications. The Egyptian Journal of Critical Care Medicine 2017;5:61-3.

3. Gadani H, Vyas A, Kar AK. A study of ventilator-associated pneumonia: Incidence, outcome, risk factors and measures to be taken for prevention. Indian J Anaesth 2010;54:535-40.

4. Kalanuria AA, Zai W, Mirski M. Ventilator-associated pneumonia in the ICU. Critical care 2014;18:208.

5. Muscedere JG, Day A, Heyland DK. Mortality, attributable mortality, and clinical events as end points for clinical trials of ventilator-associated pneumonia and hospital-acquired pneumonia. Clin Infect Dis 2010;51: 120-25.

6. Mokhless NA-S, El-Mofty MF, Hanafi NF, Muhammad A. Atypical bacteria in ventilator associated pneumonia; an Egyptian University Hospital experience. J Am Sci 2010;6:1074-79.

7. Saraya T. *Mycoplasma pneumoniae* infection: Basics. J Gen Fam Med 2017;18:118-25.

8. 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; 23: 329.

9. Atkinson TP, Balish MF, Waites KB. Epidemiology, clinical manifestations, pathogenesis and laboratory detection of *Mycoplasma pneumoniae* infections. FEMS Microbiol Rev 2008;32:956-73.

10. Saraya T. The history of *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia. Front Microbiol 2016;7:364.

11. Principi N, Esposito S, Blasi F, Allegra L, Group MS. Role of *Mycoplasma pneumoniae* and *Chlamydia pneumoniae* in children with community-acquired lower respiratory tract infections. Clin Infect Dis 2001;32:1281-9.

12. Gardiner SJ, Gavranich JB, Chang AB. Antibiotics for community-acquired lower respiratory tract infections secondary to *Mycoplasma pneumoniae* in children. Cochrane Database Syst Rev 2015;1-CD004875.

www.SID.ir

13. Nour M, Trabelsi A, Maatouk N, Hammami M. Amplification of P1 and 16S rRNA genes by nested PCR for detection of *Mycoplasma pneumoniae* in paediatric patients. Pathologie Biologie 2005;53:9-14.

14. Zhou Z, Li X, Chen X, Yao L, Pan C, Huang H, et al. Comparison of P1 and 16S rRNA genes for detection of *Mycoplasma pneumoniae* by nested PCR in adults in Zhejiang, China. J Infect Dev Ctries 2015;9:244-53.

15. Bucholtz GA, Salzman SA, Bersalona FB, Boyle TR, Ejercito VS, Penno L, et al. PCR analysis of nasal polyps, chronic sinusitis, and hypertrophied turbinates for DNA encoding bacterial 16S rRNA. Am J Rhinol 2002;16:169-73.

16. Thumerelle C, Deschildre A, Bouquillon C, Santos C, Sardet A, Scalbert M, et al. Role of viruses and atypical bacteria in exacerbations of asthma in hospitalized children: a prospective study in the Nord□Pas de Calais region (France). Pediatr Pulmonol 2003;35:75-82.

17. Han X, Li S, Lu S, Liu L, Li S, Zhang J. Amplification of 16S rDNA by nested PCR for measurement of *Mycoplasma pneumoniae* DNA over time: clinical application. J Med Microbiol 2012;61:426-30.

18. Alp E, Voss A. Ventilator associated pneumonia and infection control. Ann Clin Microbiol Antimicrob 2006;5:7.

19. Akter S, Khatun R, Shamsuzzaman S. Molecular detection of atypical microorganisms in patients with ventilator associated pneumonia. Ibrahim Med Coll J 2015;9:22-5.

20. Moosavian S, Pordeli H. Survey of respiratory and urogenital infections due to Mycoplasma in the hospitalized patients in Ahwaz Imam Khomeini Hospital. Journal of Kerman University of Medical Sciences 2003;10:185-192. [In Persian]

21. Nolan T, Gadsby N, Hellyer T, Templeton K, McMullan R, McKenna J, et al. Low-pathogenicity *Mycoplasma* spp. alter human monocyte and macrophage function and are highly prevalent among patients with ventilator-acquired pneumonia. Thorax 2016;71:594-600.

22. El Seify MY, Fouda EM, Ibrahim HM, Fathy MM, Al Husseiny Ahmed A, Khater WS, et al. Microbial etiology of community-acquired pneumonia among infants and children admitted to the pediatric hospital, Ain Shams University. Eur J Microbiol Immunol 2016; 6:206-214 .

23. Apfalter P, Stoiser B, Barousch W, Nehr M, Kramer L, Burgmann H. Community-acquired bacteria frequently detected by means of quantitative polymerase chain reaction in nosocomial early-onset ventilator-associated pneumonia. Crit Care Med 2005;33:1492-8.

24. Yamazaki T, Kenri T. Epidemiology of *Mycoplasma pneumoniae* infections in Japan and therapeutic strategies for macrolide-resistant M. pneumoniae. Front Microbiol 2016;7:693.

25. Muir MT, Cohn SM, Louden C, Kannan TR, Baseman JB. Novel toxin assays implicate *Mycoplasma pneumoniae* in prolonged ventilator course and hypoxemia. Chest 2011;139:305-10.

26. Izumikawa K. Clinical features of severe or fatal *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia. Front Microbiol 2016;7:800.

27. Kashyap S, Sarkar M. *Mycoplasma pneumonia*: Clinical features and management. Lung India 2010;27:75-85.

[DOI: 10.29252/iau.29.4.313]
Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir at 14:02 +0330 on Tuesday January 21st 2020
www.SID.ir