جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقاله پژوهشی

ارمغان دانش، مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج
دوره ۱۸، شماره۸، آذر۱۳۹۲(شماره پی در پی ۸۰)

تعیین شیوع بوردتلا پرتوسیس 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[۲]، 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 دریافت: ۱۳۹۱/۱۰/۱۹ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۳/۱۶

چکیده

زمینه و هدف: پنومونیای تنفسی یک عفونت شایع می‌باشد که عوامل متعددی در ایجاد آن دخالت دارند. هدف این مطالعه تعیین میزان شیوع بوردتلا پرتوسیس 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 نمونه‌ها رنگ‌آمیزی گرم، کشت و PCR انجام گرفت. نمونه‌ها پس از انتقال به آزمایشگاه به دو قسمت تقسیم شدند. حدود ۱ سی سی از نمونه‌ها جهت انجام Multiplex PCR در لوله اپندرف ریخته شده و باقی‌مانده بلافاصله جهت انجام کشت و رنگ‌آمیزی گرم مورد استفاده قرار گرفتند. داده‌ها با آزمون‌های مجذور کای تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: از میان نمونه‌ها،۳۵/۷ درصد مرد و۶۴/۳ درصد زن بودند و میانگین سنی آنها ۴۴ سال بود. نتایج کشت برای بوردتلا پرتوسیس و لژیونلا پنوموفیلا منفی شد. با روش PCR لژیونلا پنوموفیلا در ۱۳نفر(۱۰درصد) و بوردتلا پرتوسیس در۱نفر(۸ درصد) شناسایی شدند.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج به دست آمده از این مطالعه و موارد مثبت می‌توان به اهمیت پنومونیای ناشی از این باکتری‌ها در منطقه مورد پژوهش پی برد و به لحاظ اینکه PCR یک روش سریع در تشخیص پنومونیا می‌باشد، استفاده از این روش می‌تواند نتایج خوبی در درمان پنومونیا قبل از اتلاف وقت داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: بوردتلا پرتوسیس، لژیونلا پنوموفیلا، سیاه سرفه، پنومونیا، Multiplex PCR

*نویسنده مسئول: دکتر سید عبدالمجید خسروانی، یاسوج، دانشگاه علوم پزشکی، دانشکده پزشکی، گروه میکروب‌شناسی
Email:khosravani2us@yahoo.com

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقدمه

بوردتلا پرتوسیس یک باکتری گرم منفی و هوازی اجباری است که عامل بیماری سری سیاه سرفه است که با وجود واکسیناسیون گسترده هنوز هم موارد متعددی از بیماری گزارش می‌شود و دلایل متعددی از جمله عدم کارایی واکسن، نقص در انجام کامل واکسیناسیون، کاهش 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 می شود، همچنین به عنوان مخزن انتقال به اطفال به شمار می‌رود. متأسفانه علی رغم 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 بیمارستانی می‌باشد. مهم‌ترین بیماری‌های ناشی ازاین باکتری، بیماری لژیونلا و تب پونتیاک است که یک بیماری شبه آنفلوانزای خود محدود شونده می‌باشد. باکتری مسئول حدود ۲ تا ۱۵درصد 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 آنتی بادی 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 علایم را شناسایی کند. این روش در مورد نمونه‌هایی که

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

دارای ارگانیسم 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 پلی‌مراز 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 پلیمراز 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 پرتوسیس 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 ۱۲۶ نمونه خلط از بیماران مشکوک به ذات الریه جمع‌آوری 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 میکسینB) به ترتیب برای بوردتلا پرتوسیس 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 سالین 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

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 جمع آوری شده با استفاده از نرم‌افزارSPSS و آزمون آماری مجذور کای تجزیه و تحلیل می‌شوند.

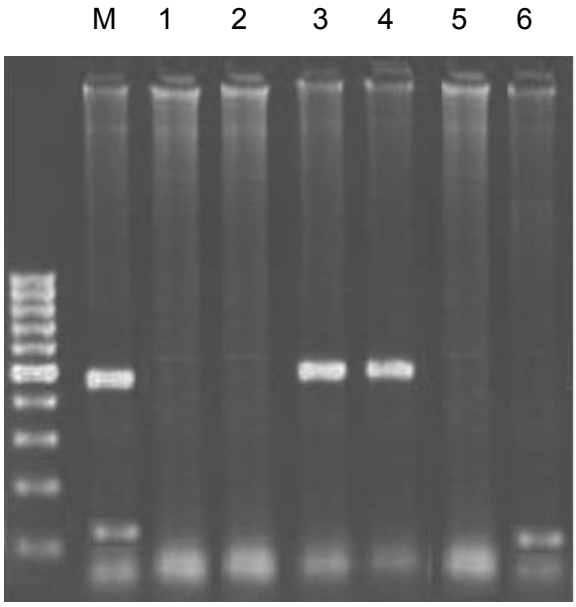
یافته‌ها

از میان ۱۲۶ نمونه مورد مطالعه، ۸۱ نفر(۶۲/۳ درصد) زن و ۴۵ نفر(۳۷/۷ درصد) مرد بودند میانگین سنی آنان ۴۴ سال بود. ۶۱ نفر(۴۸/۴ درصد) دخانیات مصرف می‌کردند و ۴۴ نفر(۳۵درصد) علیه بوردتلا پرتوسیس واکسینه نشده بودند.

بر اساس نتایج حاصله، ۱۳ نفر(۱۰/۳ درصد) دارای بیماری با عاملیت لژیونلا پنوموفیلا و ۱ نفر(۰/۸ درصد) دارای بیماری با عاملیت بوردتلا پرتوسیس بودند. نتایج نشان داد، بین جنسیت و ابتلا به ذات الریه برای هر کدام از باکتری‌ها ارتباط معنی‌داری وجود نداشت($P>۰/۰۵$).

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

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



نمودار۱: محصول الکترو فورز واکنش PCR نمونه‌ها بر روی ژل برای باکتری‌های بوردتلا پرتوسیس و لژیونلا پنوموفیلا،

M مارکرbp۱۰۰، شماره ۱ کنترل مثبت برای ۲ باکتری، شماره۲ کنترل منفی،۳ و۶ نمونه‌های کلینیکی منفی، ۴ و ۵ نمونه‌های کلینیکی مثبت برای لژیونلاپنوموفیلا و۷،نمونه کلینیکی مثبت برای بوردتلا پرتوسیس

بحث

روش‌هـــای کـــشت و واکـــنش زنجیـــره‌ای پلیمراز چندگانه روش‌های تشخیصی مهمی هـستند که به طور مستقیم قادر به تـشخیص آلـودگی‌هـای میکروبی هستند(۶). هدف این مطالعه تعیـین شـیوع بوردتلاپرتوسیس و لژیونلا پنومـوفیلا در بیمـاران با تشخیص پنومونیا در بیمارسـتان شـهید بهـشتی یاسوج به وسیله کشت و Multiplex PCR بود.

در این مطالعه۱۰درصد نمونه‌هـا آلـوده بـه لژیونلا پنوموفیلا بودند کـه مـی‌تـوان بـا تـشخیص سریع از گسترش عفونت در افراد ضعیف ممانعـت کرد. برای جدا کردن لژیونلا از نمونه‌های بالینی به وسیله کشت، محـدودیت‌هـایی وجـود دارد کـه از جمله آنها دوره انکوباسیون طولانی است. نـاتوانی روش‌هایی که هم اکنون برای تشخیص لژیـونلا 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 اسـتفاده از PCR موجب تـشخیص مطمـئن و سـریع بیمـاری می‌شود. چنـدین مطالعـه، حـساسیت ایـن روش را ۱۰۰ درصد گزارش کرده‌اند. در مطالعه حاضر ۱۳ نمونه مثبت به وسـیله PCR شناسـایی گردیـد کـه نتیجه کشت منفی داشتند و نشان دهنده حـساسیت 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 مـی‌کنـد. یـک علت عدم شناسایی لژیونلا ازمحیط کشت می‌تواند مصرف آنتی‌بیوتیک در بیماران باشد کـه درعـدم رشد باکتری تأثیر به سزایی داشته و می‌تواند در نتـایج آزمـایش‌هـای بـاکتری‌شناسـی بـه منظـور شناسایی عامل بیماری‌زا، اختلال ایجاد کند(۸ و ۷).

در این مطالعه ۱ مـورد مثبـت پرتوسـیس، مربوط به افـراد بـین ۲۵-۲۰ سـال دیـده شـد، در مقالات بیان شده کـه بزرگـسالان مخـزن عفونـت می‌باشند که این امر به دلیل کاهش ایمنی بـدن بـر اثر گذشت زمان، واکسیناسیون و هم‌چنـین فقـدان علایـم اختـصاصی بیمـاری در بزرگـسالان و در نتیجه عدم شناسایی بیمـاری در ایـن گـروه سـنی می‌باشد. در کشورهای مختلف میـزان جداسـازی این باکتری از طریق کشت، آمار متغیری بین ۵۰-۴ درصد دارد . دراین بررسی میـزان جداسـازی بـه وسیله کشت صفر درصد می‌باشـد کـه دلایـل آن همان‌طور که گفتـه شـد مـی‌توانـد ناشـی از عـدم تـشخیص بـه موقـع بیمـاری بـه خـصوص در بزرگسالان و در نتیجه ارجاع دیر هنگام بیمار بـه آزمایشگاه، عـدم نمونـه‌گیـری صـحیح، تـأخیر در ارسال نمونه و عدم رعایت شرایط کشت باشد(۱۰)

تشخیص آزمایشگاهی بـوردتلا پرتوسـیس به عنوان عامل مولد بیماری سیاه سـرفه مـی‌توانـد مزایای فراوانی داشته باشد که از جمله آنها تخمین ایـن بیمـاری در کـشور، بهبـود و پیـشرفت در نمونه‌گیـری و تـشخیص بیمـاری اسـت. علـی‌رغـم سـخت رشـد بـودن و حـساسیت فـوق العـاده ایـن

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(۱۰ و۹).

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 درکشور 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 و۱۰). بنابراین با توجه به مشکلات مربوط به این بیماری در کشور و نیز حساسیت پایین روش کشت در تشخیص بوردتلا پرتوسیس 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 پرتوسیس و لژیونلا پنوموفیلا اندک می‌باشد و در منطقه نیز چنین مطالعه‌ای صورت نگرفته است. در مورد پرتوسیس 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 پرتوسیس 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 پرتوسیس 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 علایم بالینی نسبتاً مشابه و همچنین به علت عوارض جانبی که این عوامل

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 و۷).

نتیجه‌گیری

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

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, GnarpeJ, Olin P. *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae* and persistent cough in childrenScand. J Infect Dis 1999; 31: 281-6.
3.leoni E, Legnani PP. Compartion 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 Sabattini 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, mulecular and cellular probes. a multiplex pcr for detection of *mycoplasma pneujmonia, chlamadydophila pneumonia. Legionella Pneumophilia* 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.

Armaghane-danesh, Yasuj University of Medical Sciences Journal (YUMSJ) **Original Article**

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

Mohammadinasab M[1], Khosravani A[2*], Kafilzade F [1], Jahangirisisakht A[2], Mohammadi R[3], Abasi R[4]

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