

## *Identification of Pathogens in Nasopharyngeal Secretions of Patients with and without Pneumonia by Multiplex RT-PCR Method*

Ahmad Alikhani<sup>1</sup>,  
Masoud Maboudi<sup>2</sup>,  
Mohammad Khademloo<sup>3</sup>,  
Azadeh Khalatbari<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Associate Professor, Department of Infectious Diseases, Antimicrobial Resistance Research Center, Communicable Diseases Institute, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

<sup>2</sup>Assistant Professor, Department of Infectious Diseases, Antimicrobial Resistance Research Center, Communicable Diseases Institute, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

<sup>3</sup>Associate Professor, Department of Community Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

<sup>4</sup>General Practitioner, Antimicrobial Resistance Research Center, Communicable Diseases Institute, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received April 18, 2022 ; Accepted July 24, 2022)

### *Abstract*

**Background and purpose:** Pneumonia is the most common infectious cause of death. This study aimed at investigating the causative agent of pneumonia in nasopharyngeal secretions by PCR method.

**Materials and methods:** This case-control study was carried out in patients (older than 19 years of age) suspected of pneumonia admitted to Qaemshahr Razi Hospital and Sari Imam Khomeini Hospital, Iran 2019. The control group included inpatient and outpatient cases with non-respiratory diseases. The case group included patients who met the clinical and radiological criteria. FTD respiratory pathogens 21 plus kit (Multiplex RT-PCR) was used which covers a significant number of microorganisms. Data were analyzed in SPSS V18.

**Results:** The study included 60 patients with the mean age of  $52.13 \pm 16.84$  years (19-87 years old) and the mean age of the control group was  $47.8 \pm 16.63$  years (21-83 years old). Etiological agents were significantly different between the two groups ( $P < 0.05$ ). According to PCR results, the prevalence of viral and bacterial etiology was 56.7% and 26.7%, respectively, and in 16.7% the PCR was negative.

**Conclusion:** Multiplex RT-PCR is associated with great specificity and sensitivity and is easily performed. The assay is not low cost but is of great benefit in detecting causative agents and avoiding inappropriate treatments and can reduce further bacterial resistance.

**Keywords:** pneumonia, Multiplex real-time PCR, viral pneumonia

J Mazandaran Univ Med Sci 2022; 32 (211): 103-110 (Persian).

**Corresponding Author: Masoud Maboudi** - Antimicrobial Resistance Research Center, Communicable Diseases Institute, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran. (E-mail: maboudi\_m55@yahoo.com)

# شناسایی عوامل پاتوژن در ترشحات نازوفارنکس بیماران مبتلا به پنومونی و غیر مبتلا به پنومونی به روش Multiplex RT-PCR

احمد علیخانی<sup>۱</sup>  
مسعود معبودی<sup>۲</sup>  
محمد خادم‌لو<sup>۳</sup>  
آزاده خلعت بری<sup>۴</sup>

## چکیده

**سابقه و هدف:** پنومونی بیماری عفونی سیستم تنفسی و شایع‌ترین علت مرگ در بین بیماری‌های عفونی است. این مطالعه با هدف بررسی نمونه ترشحات مجاری تنفسی از نظر عامل بیماری‌زا با روش واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR)، انجام پذیرفت.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه مورد-شاهدی و کاربردی، بیماران بالای ۱۹ سال مشکوک به پنومونی، بستری در بخش عفونی بیمارستان رازی قائم‌شهر و امام ساری، در زمستان ۹۸، وارد شدند. گروه کنترل موارد بستری یا سرپایی به دلیل بیماری‌هایی به جز بیماری‌های تنفسی، بوده است. مورد مشکوک به پنومونی بر اساس کرایتریای بالینی و رادیوگرافی است. در این مطالعه کیت Multiplex RT-PCR (FTD Respiratory pathogens 21 plus) به دلیل پوشش تعداد قابل توجه میکروارگانیزم‌ها، استفاده شد. داده‌ها توسط نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۸ تفسیر شدند.

**یافته‌ها:** در بررسی ۶۰ بیمار مشکوک به پنومونی، دامنه سنی ۸۷-۱۹ سال، میانگین و انحراف معیار  $۱۳/۵۲ \pm ۸۴/۱۶$  بوده است. گروه کنترل، دامنه سنی ۸۳-۲۱ سال، میانگین و انحراف معیار  $۴۷/۸ \pm ۱۶/۶۳$  داشتند. عوامل بیماری‌زا بین دو گروه اختلاف معناداری داشتند ( $P < ۰/۰۵$ ). نتایج PCR انجام گرفته، ۵۶/۷ درصد ویروس و ۲۶/۷ درصد باکتری، شناسایی کرد و در ۱۶/۷ درصد عاملی شناسایی نشد.

**استنتاج:** تست Multiplex RT-PCR حساسیت و اختصاصیت بالایی دارد، ساده می‌باشد، هزینه انجام آن کم نیست اما با توجه به شناسایی عوامل بیماری‌زای متنوع و جلوگیری از درمان‌های نادرست، می‌تواند اثر بخشی درمان را افزایش دهد و از مقاومت‌های دارویی در آینده بکاهد.

**واژه‌های کلیدی:** پنومونی، واکنش زنجیره ای پلیمرز (PCR)، پنومونی وایرال

## مقدمه

پنومونی بیماری شایع و اولین علت مرگ به دلیل بیماری‌های عفونی است (۱). عوامل بیماری‌زا با گذشتن از سد دفاعی ریه به سیستم تنفسی تحتانی دسترسی پیدا کرده و باعث ایجاد بیماری می‌شوند. پنومونی جزو بیماری‌های شایع جهان است (۲). شیوع بیماری در ایران و مازندران مورد بررسی دقیق قرار نگرفته است. سرفه،

پنومونی بیماری شایع و اولین علت مرگ به دلیل بیماری‌های عفونی است (۱). عوامل بیماری‌زا با گذشتن از سد دفاعی ریه به سیستم تنفسی تحتانی دسترسی پیدا کرده و باعث ایجاد بیماری می‌شوند. پنومونی جزو بیماری‌های شایع جهان است (۲). شیوع بیماری در ایران و مازندران مورد بررسی دقیق قرار نگرفته است. سرفه،

**مؤلف مسئول:** مسعود معبودی - قائم‌شهر: مرکز آموزشی درمانی رازی، مرکز تحقیقات مقاومت میکروبی و بیماری‌های قابل انتقال E-mail: maboudi\_m55@yahoo.com

۱. دانشیار، گروه بیماری‌های عفونی، مرکز تحقیقات مقاومت میکروبی و بیماری‌های قابل انتقال، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۲. استادیار، گروه بیماری‌های عفونی، مرکز تحقیقات مقاومت میکروبی و بیماری‌های قابل انتقال، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۳. دانشیار، گروه پزشکی اجتماعی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۴. پزشک عمومی، مرکز تحقیقات مقاومت میکروبی و بیماری‌های قابل انتقال، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱/۲۹ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۴۰۱/۲/۲۱ تاریخ تصویب: ۱۴۰۱/۵/۲

خلط، تب از علائم شایع بیماری است و بیماران معمولاً بد حال هستند. دیس پنه و تاکی کاردی در معاینه دیده می‌شود و استاندارد تشخیصی آن در حال حاضر رادیوگرافی ساده قفسه سینه می‌باشد (۴،۳). بررسی خلط و نمونه معجاری تنفسی، برونکوسکوپی، بیوپسی پلور، بررسی مایع پلور، کشت خون، مطالعات سرولوژی و بررسی آنتی ژن و تصویربرداری، روش‌های مکمل تشخیصی هستند. شروع درمان در ۴ تا ۸ ساعت ابتدایی علائم، از عوارض و مرگ و میر بیماران می‌کاهد، به همین دلیل درمان تجربی بر اساس باکتری‌های احتمالی در بدو مراجعه انجام می‌شود (۵). امروزه ویروس‌ها، در مقایسه با گذشته نقش بیش‌تری در این بیماری دارند و گرافی ریه و بررسی بالینی، در افتراق علل نقش موثری ندارند (۶،۷). شناخت پاتوژن اصلی برای مدیریت بیمار و کاهش درمان آنتی‌بیوتیکی و استفاده از درمان ضد ویروس مفید است (۸). از بین روش‌های متفاوت، اسمیر و کشت خلط ساده ارزان و در دسترس است، ولی همکاری بیماران، عدم وجود خلط و مصرف آنتی‌بیوتیک بر نتیجه آن اثر نامطلوب دارد (۹). در بین این روش‌ها، (PCR) multiplex real time polymerase chain reaction تکنیکی با حساسیت و اختصاصیت بالایی است و به مهارت بیش‌تری نیاز دارد. اگر چه هزینه زیادی دارد، اما در انتخاب مسیر درمانی درست کمک‌کننده است (۱۰).

این مطالعه با هدف تعیین فراوانی علل ویروسی و غیر ویروسی پنومونی انجام گرفت. بسیاری از بیماران مبتلا به پنومونی با علل ویروسی، تحت درمان‌های آنتی‌بیوتیک تجربی قرار می‌گیرند. با توجه به توانایی Multiplex RT-PCR در شناسایی طیف وسیعی از علل، استفاده از آن در تمام بیماران مشکوک به پنومونی، به شروع سریع درمان موثر و کاهش مصرف آنتی‌بیوتیک و کاهش مقاومت دارویی، کمک می‌کند.

## مواد و روش‌ها

در این مطالعه مورد-شاهدی و کاربردی، به منظور

ارزیابی میزان پاتوژن‌های ویروسی و غیر ویروسی در بیماران مبتلا به پنومونی و غیر پنومونی، از ارزیابی تحلیلی بیماران استفاده گردید. همه بیماران با سن بیش‌تر از ۱۹ سال، مشکوک به پنومونی، که براساس کرایتریای بالینی و رادیوگرافی قفسه سینه، در بخش عفونی بیمارستان رازی قائم شهر و بیمارستان امام ساری طی زمستان ۹۸ بستری شده و معیارهای ورود را دارا بوده‌اند، به‌عنوان گروه مطالعاتی انتخاب شده‌اند. گروه کنترل از بیماران غیر مبتلا به پنومونی و علائم ریوی، مراجعه‌کننده به بیمارستان رازی قائم شهر طی همین مدت و به صورت تصادفی انتخاب شده‌اند. در این مطالعه معیارهای ورود به مطالعه وجود حداقل یکی از هر سه گروه از علائم بالینی، آزمایشگاهی و رادیوگرافیک می‌باشد. علائم بالینی شامل، تب، سرفه، دیسترس تنفسی، دیس پنه، رال، استفراغ، سیانوز، اسهال، کوریزا، علائم رادیوگرافی شامل، انفیلتراسیون ریوی، وجود کلاپس در ریه و یا وجود مایع در فضای پلور، علائم آزمایشگاهی شامل، شمارش گلبول‌های سفید خون بیش‌تر از ۱۰۰۰۰ یا کم‌تر از ۱۵۰۰ سلول در هر میلی‌متر مکعب خون، سرعت رسوب گلبول‌های قرمز (ESR) مساوی یا بیش‌تر از ۳۰، پروتئین فاز حاد (CRP) افزایش یافته (به صورت کیفی) و یا یک کشت مثبت برای عوامل باکتریال از خون، مایع پلور و یا هر مایع و یا نسج بدن، می‌باشد. بیماران با TB غیر فعال و بیمارانی که قبلاً تحت درمان TB قرار گرفته بودند، بیمارانی که در طی ۱۴ روز اخیر سابقه بستری در بیمارستان را داشتند و کسانی که در خانه سالمندان اقامت داشتند از این مطالعه حذف شدند. همچنین عدم رضایت به شرکت یا ادامه مشارکت در مطالعه به عنوان معیار نیز خروج در نظر گرفته شد (۱۱). در ابتدا از بیماران رضایت شخصی آگاهانه گرفته شد، سپس بیماران و پرونده‌های آن‌ها از نظر معیارهای پنومونی مورد بررسی قرار گرفت و بیمارانی که معیارهای لازم را داشتند وارد مطالعه شدند. بر اساس فرمول مقایسه نسبت‌ها به ۸۰ نمونه نیاز بود. فرایند مطالعه توسط کمیته اخلاق (کد:

توسط نرم افزار SPSS نسخه ۱۸ آنالیز گردید و سطح معنی دار، در کل مطالعه  $P < ۰/۰۵$  در نظر گرفته شد.

## یافته ها و بحث

این مطالعه، برای اولین بار، نتایج Multiplex RT-PCR نمونه سواب نازوفارنکس بیماران مبتلا به پنومونی، از نظر عوامل بیماری زای، در مازندران بررسی گردید. استاندارد طلایی تشخیص پنومونی گرافی قفسه سینه است، اما در تشخیص اتیولوژیک بیماری کمک کننده نیست. به همین دلیل جهت تعیین علل اتیولوژیک از PCR استفاده شد (۳). اطلاعات مطالعه حاضر می تواند در تسریع درمان بیماری و کاهش مصرف آنتی بیوتیک ها موثر باشد.

این مطالعه نشان داد، که اختلاف معناداری در عامل بیماری زای شناسایی شده، بین گروه بیمار و کنترل وجود دارد. همچنین، میزان ویروس شناسایی شده، از عوامل دیگر بیماری زای بیش تر نشان داده شد. مشاهده بیماران با درگیری شدید ریوی که علت قانع کننده ای برای آنها پیدا نمی شود و به درمان های معمول و آنتی بیوتیکی پاسخ نمی دهند، بر اهمیت این نتایج می افزاید. در این مطالعه، بررسی ۶۰ بیمار مشکوک به پنومونی نشان داد که بیماران دامنه سنی ۸۷-۱۹ سال داشتند. گروه کنترل نیز محدوده سنی ۲۱ تا ۸۳ سال داشتند. اطلاعات دموگرافیک و کلینیکال بیماران و گروه کنترل در جداول شماره ۱ و ۲ آمده است.

در این مطالعه، فراوانی عامل ویروسی ۵۶/۷ درصد و عامل باکتریال ۲۶/۷ درصد بوده است و در ده مورد، میکروارگانسمی شناسایی نشد. ویروس انفلوانزا h1n1، بیش ترین عامل ویروسی، با فراوانی ۳۳/۳ درصد و نیز شایع ترین عامل بیماری زای شناسایی شده بود. کم ترین عامل مایکوپلازما پنومونیه با فراوانی ۳/۳ درصد و استرپتوکوک پنومونیه شایع ترین عامل بیماری زای غیر ویروسی در این مطالعه می باشد. نتایج گروه کنترل، ۸۵ درصد موارد را منفی و ۱۵ درصد، استافیلوکوک اورئوس شناسایی کرد، که شاید نشان از ناقل بودن این افراد باشد (جدول شماره ۳).

IR.MAZUMS..REC.1397,1195 دانشگاه علوم پزشکی مازندران بررسی و تایید گردید. در بدو ورود از بیماران یک نمونه خون جهت انجام آزمایش های، Erythrocyte Sedimentation Rate (ESR)، Cell Blood Count (CBC) و C Reactive Protein (CRP) گرفته شد. سپس رادیوگرافی ریه به صورت خلفی - قدامی از بیمار به عمل آمد و توسط رادیولوژیست تفسیر شد. سی تی اسکن ریه نیز انجام گرفت و از تمام بیماران و افراد گروه کنترل، دو نمونه سواب نازوفارنکس و اوروفارنکس تهیه شد و PCR بر روی نمونه ها انجام شد. بر این اساس شیوع درگیری ویروس تنفسی در این بیماران مورد محاسبه قرار گرفت.

در این مطالعه از کیت (Multiplex RT-PCR) FTD Respiratory pathogens 21 plus و آستانه شرکت سازنده برای نتایج مثبت و منفی استفاده گردید. کیت متعلق به کمپانی siemens healthineers در کشور لوکزامبورگ است. این کیت قابلیت شناسایی ۲۰ ویروس و ۵ عامل غیر ویروسی را داراست. موارد قابل تشخیص در این تست شامل، آنفلوانزا A، B و H1N1، پاراآنفلوانزای انسانی ۱، ۲، ۳ و ۴، کرونا ویروس انسانی NL63، HKU1 و 229E، متاپنومو ویروس انسانی A و B، رینو ویروس، ویروس سنسیشیال تنفسی، آدنو ویروس، انترو ویروس، پاراکو ویروس، بوکا ویروس، مایکو پلازما پنومونیه، کلامیدیا پنومونیه، استرپتوکوکوس پنومونیه، هموفیلوس آنفلوانزا تایپ B، استافیلوکوک اورئوس، می باشد (۱۲). از پرونده بیماران اطلاعات دموگرافیک، مدت زمان بستری، علائم بالینی، آزمایشگاهی و رادیوگرافی و نیز میزان مرگ و میر، در فرم های اطلاعاتی مربوطه ثبت شد. برای تجزیه و تحلیل داده ها و برای توصیف آن از روش های آمار توصیفی شامل میانگین  $\pm$  انحراف معیار برای متغیرهای کمی، از جداول فراوانی برای متغیرهای کیفی، برای مقایسه بین دو گروه از T-test و کای اسکوئر و برای ورود داده ها از نرم افزار EXCEL، استفاده شد و در نهایت داده ها

## جدول شماره ۱: اطلاعات دموگرافیک و کلینیکال و پاراکلینیکال بیماران

کل بیماران تعداد=۶۰ (درصد)	بیماران مبتلا به عفونت ویروسی تعداد = ۳۴ (درصد)	بیماران مبتلا به عفونت غیر ویروسی تعداد = ۱۶ (درصد)	متنی تعداد=۱۰ (درصد)	سطح معنی داری
۱۶/۸۴±۵۲/۱۳				سن، (میانگین ± انحراف معیار) (سال)
۵۱/۶۶۳۱	۶۱/۲۹۱۹	۲۲/۵۸۷	۱۶/۱۲۵	جنس زن (تعداد (درصد))
۴۸/۳۳۱۹	۵۱/۷۳۱۵	۳۱/۰۲۸	۱۷/۲۴۵	مرد (تعداد (درصد))
				بیماری های همراه
۳/۳۲	۲/۹۶۱	۶/۲۵۱	۰	آسم
۲۱/۷۱۳	۵۲/۸۲۳	۶/۲۵۱	۴/۴	دیابت ملیتوس
۱۰/۶	۶/۲۵۴	۰	۲/۲	بیماری های قلبی عروقی
۱۴/۲۳۳	۲۹/۴۱۰	۶/۲۵۱	۳/۳	فشار خون بالا
۳/۳۲	۲/۹۴۱	۰	۱/۰	سرطان عضو توبر
				یافته های کلینیکی (میانگین ± انحراف معیار)
۱۴/۰۲±۱۱۳/۹۱	۱۲/۷۱±۱۱۶/۶۱	۱۴/۳۷±۱۰۷/۵	۱۵/۸۱±۱۱۵/۰۰	فشار خون سیستولیک (میلی متر جیوه)
۱۱/۶۸±۸۷/۴۸	۹/۲۲±۸۶/۵	۱۴/۱۹±۸۷/۴۳	۱۵/۲۱±۹۰/۹	ضربان قلب (تعداد در دقیقه)
۰/۸۸±۳۷/۸۹	۰/۸۱±۳۷/۸۹	۰/۹۱±۳۸/۰۱	۱/۱۱±۳۷/۶۷	درجه حرارت (سانتی گراد)
۸/۰۹±۷۱/۱۶	۸±۷۲/۵۰	۸/۳±۶۸/۱۲	۷/۴±۷۱/۵	فشار خون دیاستولیک (میلی متر جیوه)
				یافته های آزمایشگاهی (میانگین ± انحراف معیار)
۳۵۰۸/۳۸±۱۳۶۱/۶۶	۳۹۶۳۹/۲±۶۶۴۴/۱۱	۶۰۳۴/۰۳±۹۱۸۱/۲۵	۵۲۰/۴±۲۶۸۹۰	گلبول سفید (تعداد در هر میکرو لیتر)
۱۱۶۴۸۵/۶±۲۰۸۰۵۰	۹۰۹۲۵/۲±۱۸۰۱۶۷/۰۵	۱۰۵۹۶۳±۲۱۷۸۱۲/۵	۱۷۲۲۷۸/۴±۲۸۳۰۰	پلاکت (تعداد در هر میکرو لیتر)
۵۷/۹۶±۱۲۴/۲۳	۵۰/۶±۱۲۴/۲۶	۳۹/۶±۱۰۹/۵۶	۹۵/۰۱±۱۴۷/۶۰	mg/dl, FBS
۲۶/۱۳±۵۴/۱۰	۲۴/۶۱±۵۴/۸۳	۳۰/۵±۵۲/۳۱	۲۶/۱۳±۵۴/۸	mm/h, ESR
۷۶/۷/۴۶	۵۴/۳۴/۲۵	۲۸/۲۶/۱۳	۱۷/۳۹/۸	mg/dl, CRP

FBS: fasting blood sugar test : ۱

ESR: erythrocyte sedimentation rate : ۲

## جدول شماره ۲: اطلاعات دموگرافیک و کلینیکال گروه کنترل

گروه کنترل تعداد=۲۰ معنی داری	تعداد (درصد)	سطح معنی داری
۱۶/۶۳±۴۷/۸		۰/۷۹۸
		سن، (میانگین ± انحراف معیار) (سال)
۴ (۲۰)		۰/۷۲۱
۸ (۴۰)		۰/۶۷۶
		جنس زن (تعداد (درصد))
		مرد (تعداد (درصد))
		بیماری های همراه (تعداد (درصد))
۰	۰	۰/۲۲۲
۳	۱۵	۰/۱۶۹
۵	۲۵	۰/۳۷۸
۱	۵	۰/۲۸۰
		آسم
		دیابت ملیتوس
		بیماری های قلبی عروقی
		فشار خون بالا
		یافته های کلینیکی (میانگین ± انحراف معیار)
۸/۲±۱۱۴		۰/۷۸۰
۷/۶۱±۷۵		۰/۶۵۶
۰/۴۴±۳۶/۶۴		۰/۳۹۰
۷/۶۱±۷۱/۵		۰/۰۹۰
		فشار خون سیستولیک (میلی متر جیوه)
		ضربان قلب (تعداد در دقیقه)
		درجه حرارت (سانتی گراد)
		فشار خون دیاستولیک (میلی متر جیوه)

## جدول شماره ۳: فراوانی پاتوژن های شناسایی شده

پاتوژن	بیماران تعداد (درصد)	گروه کنترل تعداد (درصد)
استرپتوکوک پنومونیه	۱۵/۹	۰
مایکوپلاسما پنومونیه	۳/۳۲	۰
استافیلوکوک اورئوس	۸/۳۵	۱۵/۳
کرونا ویروس 229E	۶/۷۴	۰
انفلوآنزا h1N1	۳۳/۷۲	۰
ادنو ویروس	۱۶/۷۱	۰
منفی	۱۶/۷۱	۸۵/۱۷

این مطالعه، ارتباط معناداری بین شناسایی عامل بیماری زا در نمونه ترشحات نازوفارنکس گروه بیمار و گروه کنترل با  $P < 0/05$  نشان داد. در مطالعه ای مشابه، Sundell و همکاران از روش PCR برای تعیین شیوع پاتوژن های تنفسی در افراد بدون علامت و بیمار استفاده کردند و نشان دادند، علل غیر ویروسی شیوع بیشتری دارد و در بین ویروس ها، رینو ویروس از شیوع بالایی برخوردار است (۱۳). استرپتوکوک پنومونیه نیز شایع ترین عامل غیر ویروسی در دو گروه شناسایی شد. در مطالعه Mayer و همکاران که نقش PCR بررسی گردید، علل ویروسی را با شیوع بیش تر تشخیص داد و رینو ویروس شایع ترین ویروس و شایع ترین عامل بیماری زا شناسایی شد (۱۴). هموفیلوس انفلوآنزا شایع ترین عامل غیر ویروسی بود. Junior و همکاران علل غیر ویروسی را شایع تر تشخیص دادند و سنسیشیال ویروس و رینو ویروس شایع ترین عوامل ویروسی شایع ترین عامل غیر ویروسی استرپتوکوک پنومونیه شناسایی گردید (۱۵).

در مطالعه Aydemir و همکاران شایع ترین باکتری به دست آمده، استرپتوکوک پنومونیه و بعد از آن هموفیلوس انفلوانزا بود (۱۶).

مطالعه Brittain و همکاران انفلوانزا A را شایع ترین ویروس و استرپتوکوک پنومونیه را شایع ترین عامل بیماری‌زا نشان داد (۱۷).

Oosterheert و همکاران در مطالعه خود، شایع ترین عامل بیماری‌زا را انفلوانزا A و شایع ترین باکتری را استرپتوکوک پنومونیه تشخیص دادند (۱۸).

در مطالعه Mayer مشابه نتایج مطالعه حاضر، عامل ویروسی به عنوان شایع ترین عامل بیماری‌زا شناسایی گردید و نقش PCR در تشخیص آن مورد توجه قرار گرفت. سایر مطالعات توضیح داده شده، بر خلاف مطالعه حاضر عامل غیر ویروسی به عنوان شایع ترین عامل بیماری‌زا شناسایی شد، ولی عامل ویروسی در این مطالعات درصد بالایی را به خود اختصاص داده بود (۱۳، ۱۸-۱۵).

این پنج مطالعه نیز بر نقش PCR در شناسایی عوامل بیماری‌زا و به خصوص عوامل ویروسی تاکید داشت. شایع ترین ویروس شناسایی شده در مطالعه حاضر و چندین مطالعه ذکر شده، متفاوت می‌باشد (۱۸-۱۳). با توجه به این که مطالعه حاضر گروه با سن بالاتر از ۱۹ سال و مطالعات دیگر، کلیه گروه‌های سنی را مد نظر قرار دادند، شاید اختلاف در خصوص نوع عامل ویروسی شایع، قابل توضیح باشد. در مورد عامل بیماری‌زای غیر ویروسی مطالعه حاضر استرپتوکوک پنومونیه را شناسایی کرد، این مطلب در شش مطالعه بررسی شده نیز تایید گردید (۱۸-۱۳).

در مطالعه حاضر میزان شناسایی ویروس در گروه سنی ۵۰ سال و بالاتر بیش تر بود. در مطالعه Sandell، نشان داده شد که سن بالای ۶۵ سال در گروه بی‌علامت، شیوع ویروسی کم‌تری دارد (۱۳). در مطالعه Mayer و Oosterheert نیز اختلاف معناداری بین سن و نتیجه PCR به دست نیامد (۱۴، ۱۸). در این مبحث نتایج سه مطالعه مغایر با مطالعه حاضر است که به نظر می‌رسد

حجم نمونه بالای مطالعات مذکور در این نتیجه موثر باشد. برای تایید نتیجه مطالعه حاضر نیاز به مطالعات وسیع‌تری است.

در این مطالعه شایع ترین علامت بیماران سرفه با ۹۰ درصد فراوانی و کم‌ترین علامت هموپتزی و درد قفسه سینه با ۳/۳ درصد فراوانی گزارش شد. برای کلیه بیماران سی‌تی‌اسکن ریه انجام شد، درگیری یک لوب در ۳۵ درصد و درگیری multi-lobar در ۳۹ مورد دیده شد. بیش‌ترین نمای دیده شده، consolidation با فراوانی ۳۵ درصد و کم‌ترین نمای دیده شده pleural effusion با فراوانی ۱/۷ درصد بود. مقایسه نتیجه PCR با جنس، مشکلات زمینه‌ای بیماران، علائم بیماران، علائم حیاتی، نتایج آزمایشگاهی و پترن سی‌تی‌اسکن، نشان داد با P بیش‌تر از ۰/۰۵ اختلاف معنی‌داری وجود ندارد و مطالعات دیگر نیز این نتایج تایید گردید (۱۸-۱۳).

وجود یک آزمایشگاه مرجع در خصوص انجام تست PCR، در سطح استان، همکاری متفاوت افراد در تهیه نمونه و در انتها شیوع بیماری کووید ۱۹، با محدود کردن عملکرد آزمایشگاه مرجع محدودیت مطالعه حاضر محسوب می‌شد. در کنار این موارد، تعیین گروه کنترل برای مقایسه، یک نقطه قوت در مطالعه حاضر محسوب می‌گردد.

تست PCR حساسیت و اختصاصیت بالایی در تشخیص عوامل بیماری‌زا دارد و تهیه نمونه و انجام آزمایش آن، ساده می‌باشد، لذا با توجه به توانایی شناسایی عوامل بیماری‌زای متنوع، به نظر می‌رسد هزینه و اثر بخشی درمان را افزایش دهد و با کاهش استفاده نا به جا از آنتی‌بیوتیک‌ها در موارد ویروسی، از مقاومت‌های دارویی در آینده بکاهد.

## سپاسگزاری

از آقای ربیعی برای همکاری در زمینه تست‌ها و آقای دکتر اصغری برای همکاری در زمینه رادیولوژی سپاسگزاریم.

## References

- Musher DM, Thorner AR. Community-Acquired Pneumonia. *N Engl J Med* 2014; 371(17): 1619-1628.
- Ziyade N, Elgörmüş N, Kara E, Karayel F. Investigation of viral respiratory tract infection agents by multiplex PCR method in autopsy cases: A five-year study. *Mikrobiyol Bul* 2019; 53(2): 179-191.
- Mandell G, Bennett G, Dolin R. Acute pneumonia: principles and practice of infectious diseases. 7<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Churchill Livingstone; 2010.
- Jain S, Self WH, Wunderink RG, Fakhran S, Balk R, Bramley AM, et al. Community-acquired pneumonia requiring hospitalization among US adults. *N Engl J Med* 2015; 373(5): 415-427.
- Song T-J, Kim J. Risk of post-stroke pneumonia with proton pump inhibitors, H2 receptor antagonists and mucoprotective agents: A retrospective nationwide cohort study. *PloS One* 2019; 14(5): e0216750.
- Ruuskanen O, Lahti E, Jennings LC, Murdoch DR. Viral pneumonia. *Lancet* 2011; 377(9773): 1264-1275.
- Bhuiyan MU, Blyth CC, West R, Lang J, Rahman T, Granland C, et al. Combination of clinical symptoms and blood biomarkers can improve discrimination between bacterial or viral community-acquired pneumonia in children. *BMC Pulm Med* 2019; 19(1): 71.
- Lanks CW, Musani AI, Hsia DW. Community-acquired pneumonia and hospital-acquired pneumonia. *Med Clin North Am* 2019; 103(3): 487-501.
- Galván JM, Rajas O, Aspa J. Review of non-bacterial infections in respiratory medicine: viral pneumonia. *Arch Bronconeumol* 2015; 51(11): 590-597.
- Ranzani OT, Prina E, Menéndez R, Ceccato A, Cilloniz C, Mendez R, et al. New sepsis definition (Sepsis-3) and community-acquired pneumonia mortality. A validation and clinical decision-making study. *Am J Respir Crit Care Med* 2017; 196(10): 1287-1297.
- Zhang N, Wang L, Deng X, Liang R, Su M, He C, et al. Recent advances in the detection of respiratory virus infection in humans. *J Med Virol* 2020; 92(4): 408-417.
- Drieghe S, Ryckaert I, Beuselinck K, Lagrou K, Padalko E. Epidemiology of respiratory viruses in bronchoalveolar lavage samples in a tertiary hospital. *J Clin Virol* 2014; 59(3): 208-211.
- Sundell N, Andersson L-M, Brittain-Long R, Sundvall P-D, Alsiö Å, Lindh M, et al. PCR detection of respiratory pathogens in asymptomatic and symptomatic adults. *J Clin Microbiol* 2019; 57(1): e00716-e00718.
- Mayer LM, Kahlert C, Rassouli F, Vernazza P, Albrich WC. Impact of viral multiplex real-time PCR on management of respiratory tract infection: a retrospective cohort study. *Pneumonia* 2017; 9(1): 4.
- Martins Júnior RB, Carney S, Goldemberg D, Bonine L, Spano LC, Siqueira M, et al. Detection of respiratory viruses by real-time polymerase chain reaction in outpatients with acute respiratory infection. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2014; 109(6): 716-721.
- Aydemir O, Aydemir Y, Ozdemir M. The role of multiplex PCR test in identification of bacterial pathogens in lower respiratory tract infections. *Pak J Med Sci* 2014; 30(5): 1011.

17. Brittain-Long R, Nord S, Olofsson S, Westin J, Anderson L-M, Lindh M. Multiplex real-time PCR for detection of respiratory tract infections. *J Clin Virol* 2008;41(1):53-56.
18. Oosterheert JJ, Van Loon AM, Schuurman R, Hoepelman AI, Hak E, Thijsen S, et al. Impact of rapid detection of viral and atypical bacterial pathogens by real-time polymerase chain reaction for patients with lower respiratory tract infection. *Clin Infect Dis* 2005; 41(10):1438-1444.