

باکتریهای پاتوژن جدا شده از نمونه بیماران مشکوک به عفونت ریوی

دکتر محمدحسین سالاری - دانشکده بهداشت - دانشگاه علوم پزشکی تهران

Pathogen Bacteria Isolated from Patients Suspected to Suffer Pulmonary Infection

ABSTRACT

The lower respiratory tract is vulnerable to infection by a wide variety of microorganisms, because it is one of the organ systems which communicate directly with the environments. Although viruses and fungi can cause lower respiratory tract infections, bacteria are the dominant pathogens. Among bacteria the common causes of lower respiratory tract infection is *Streptococcus pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Haemophilus influenzae* and *Legionella* species.

This study has been carried out to investigate pathogenic bacteria isolated from sputum of 220 patients with suspected pulmonary infection. The results were obtained as follow:

<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	17 cases	22.7 percent
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	-	-
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	17 cases	22.7 percent
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	12 cases	16 percent
<i>Haemophilus influenzae</i>	10 cases	13.3 percent
<i>Staphylococcus aureus</i>	15 cases	20 percent
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4 cases	5.3 percent

خلاصه

نسبت تحتانی دستگاه تنفس یکی از بخش های مهم بدن است که به علت تماس مستقیم آن با محیط خارج در معرض آلودگی با میکروارگانیسم های مختلف می باشد. بعضی از ویروسها و قارچها بعنوان عوامل عفونتزا در ریه مطرحند لیکن همیشه باکتریهای پاتوژن مانند مایکوپلازما، استرپتوکوکوس، استرپتوکوکوس پنومونیه، مایکوپلازما پنومونیه، استافیلوکوکوس ارئوس، استرپتوکوکوس پیوژنس، هموفیلوس آنفلوانزا، گونه های لژیونلا و غیره... را عوامل عفونی غالب در این زمینه معرفی می نمایند.

در این مطالعه ۲۲۰ نمونه خلط بیماران مشکوک به عفونت ریوی گردآوری شده و از نظر عوامل باکتریال مورد بررسی قرار گرفته است که نتایج بدست آمده بدین صورت است:

مایکوپلازما پنومونیه	۱۷ مورد	۲۲/۷ درصد
مایکوپلازما پنومونیه	-	-
استرپتوکوکوس پنومونیه	۱۷ مورد	۲۲/۷ درصد
کلیسیلا پنومونیه	۱۲ مورد	۱۶ درصد

هموفیلوس آنفلوانزا	۱۰ مورد	۱۳/۳ درصد
استافیلوکوکوس ارئوس	۱۵ مورد	۲۰ درصد
پسودوموناس آئروجینوزا	۴ مورد	۵/۳ درصد

کلمات کلیدی: باکتریهای پاتوژن، نمونه بیماران، مشکوک به عفونت ریوی

مقدمه

عفونت ریوی یکی از جدی ترین بیماریهای است که هر ساله در جهان عده زیادی را مبتلا نموده، یا به کام مرگ می برد. این نوع عفونت را تحت سه عنوان برونشیت، برونشولیت و پنومونی معرفی می کنند. اگرچه شرایط اقتصادی، اجتماعی، زیستی، نوع شغل، مصرف دخانیات، سن، وضعیت جسمانی، ژنتیک و ایمونولوژیک در بروز و ظهور عفونت دخالت دارند لیکن علت اصلی بیماری را عوامل عفونی مانند ویروسها، قارچها و باکتریها

می‌رفتند. نقش باکتری‌های مانند استافیلوکوکوس آئورس، پنوموکوک، لژیوسلا پنوموفیلا، سایکوباکتریوم توریکولوزیس، هموفیلوس آنفلورنزا (۱۵)، سایکوپلاسماپنومونیه، تعدادی از باسیل‌های خانوادۀ انثروباکتریاسه و نیز بعضی از باکتری‌های بی‌هوایی، باز است. افرادی که در معادن و یا کارخانه‌ها کار می‌کنند و در معرض هوای آلوده به گرد و خاک و با گازهای سمی می‌باشند، کسانی که دخانیات مصرف می‌کنند، افرادی که از نظر خانوادگی دچار نقص سیستم ایمنی و یا ژنتیک می‌باشند بیشتر مبتلا به عفونت‌های گوناگون از جمله بیماری‌های عفونی ریه می‌شوند. گزارش می‌شود که کودکان ۲ ماهه الی ۵ ساله بیشتر به عفونت‌های ویروسی مبتلا می‌شوند (این بیماری خود زمینه‌ساز عفونت‌های ثانویه باکتریایی مربوط به هموفیلوس آنفلورنزا، پنوموکوک و استافیلوکوک می‌باشد) در حالی که افراد با سن بیش از ۳۰ سال اغلب به عفونت ریوی ناشی از مایکوپلاسماپنومونیه و اشماس مسن بیشتر به عفونت ریوی پنوموکوک و لژیونائیس مبتلا می‌گردند (۱۱، ۱۷، ۱۹).

روش کار

در این مطالعه با مراجعه به بخش اندوسکوپیی بیمارستان امام خمینی تهران طبق تشخیص پزشک معالج ۲۲۰ بیمار مشکوک به عفونت ریوی را که حداقل ۱۰-۷ روز قبل داروی مصرف نکرده بودند انتخاب نموده، ضمن تکمیل یک پرسشنامه با همکاری بخش منگور از آنها نمونه‌گیری بعمل آوردیم. سپس نمونه‌ها را به آزمایشگاه میکروبیشناسی منتقل نموده به مطالعه میکروسکوپی و ماکروسکوپی هر نمونه که با روش رنگ آمیزی گرم و اسپینفاست آماده شده بود پرداخته، بلافاصله هر نمونه را روی محیط‌های بسلازاگار، شکلات‌آگار، اندوآگار، محیط اختصاصی مایکوپلاسماپنومونیه^(۱) و مایکوپاکتریوم^(۲) تسریح‌لورزیس کشت نموده بر حسب نوع کشت مدت لازم در شرایط ۳۷ درجه سانتیگراد قرار داده سپس با استفاده از تست‌های اختصاصی مانند کوآگولاز، اپنوجین، باسیلرین، تخمیر قندهائی مانند سکرروزه، مانیتول، گلوز، لاکتوز، ترهالوز - دکولوزو تست‌های اندول، اوره، کاتالاز، اکسیداز، تست نیاسین، اجای تیرتات، نیاز به فاکتورهای ایکس روی (برای هموفیلوس آنفلورنزا)، متیل‌رود، وژزبسکوئر سیمون سترات، ژالین، لیزین، دکربوکسیلاز، آرژنین دهیدروژناز، اورنیتین دکربوکسیلاز، فنیل آلانین و آمیناز ... و سایرها مورد شناسایی قرار گرفتند. جهت تشخیص مقاومت دارویی باکتری‌های

منگور از روش آگار دیفیوژن یا روش دیسک استفاده شده است. در این روش از محیط کشت مورل هیتون بدون و یا همراه با ۵-۳ درصد خون گرفتند برای رشد باکتری‌های حساس و یا محیط شکلاتی برای هموفیلوس آنفلورنزا و بدون خون برای باکتری‌های دیگر طبق دستورالعمل آن تهیه نموده جهت تهیه محلول باکتریایی بالرب استریل قسمت فوقانی ۵-۴ کلنی مجزای با صفات شکلی مشابه را به لوله آزمایش محتوی محیط کشت تریپتیکس سری برات^(۳) پرده آن را در یخخانه با حرارت ۳۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۸-۲ ساعت قرار می‌دهیم تا کدورت آن برابر با محلول استاندارد شود. سپس سوآب پنبه‌ای استریل را وارد شیشه منگور کرده، ضمن چرخاندن پلیت محتوی محیط کشت مورل هیتون، آن را به صورت خطوط رفت و برگشت کشت می‌دهیم. پس از گذشت چند دقیقه دیسک‌های آنتی بیوتیک را توسط پنس ظریف استریل با رعایت حفظ فواصل مشخص و استاندارد طوری روی محیط کشت قرار می‌دهیم که کاملاً با آن در تماس باشد. سپس به مدت ۱۸-۱۶ ساعت پلیت را در حرارت ۳۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده با اندازه‌گیری قطر منطقه عدم رشد و مطابقت آن با جدول استاندارد، مقاومت باکتری را نسبت به آنتی بیوتیک‌های گوناگون تفسیر می‌نماییم. لازم به ذکر است که در مورد کشت مایکوپلاسمای پنومونیه پس از انتقال نمونه توسط محیط ترانسپورت به آزمایشگاه و انجام عمل فیلتراسیون، آن را به محیط مسایح اختصاصی برای کشت مایکوپلاسمای (حاوی سرم اسب، مخمر، متیل‌رود، پنی‌سیلین و گلوز) منتقل نموده، آن را روی محیط جامد اختصاصی این باکتری کشت داده، پس از گذشت چند هفته دوره انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، کلنی‌های ریز با کتری را توسط درشت‌نمایی کم میکروسکپ مورد مطالعه قرار داده‌ایم. سرم بیماران را نیز از نظر آنتی‌بادی با روش آگلوتیناسیون سرد^(۴) مورد بررسی قرار داده‌اند (۱۴، ۱۸، ۲۳).

نتایج

ما در این مطالعه ۲۲۰ نمونهٔ خطاط مورد مطالعه را از نظر باکتری‌لژی و مقاومت دارویی بعضی از باکتری‌های پاتوزن جدا

- ۱- Owenstein-jensen - ۲ ppho agar and ppho broth - ۱
 ۲- cold agglutination - ۲ Tripathis sul barat - ۳

جدول شماره ۱: توزیع فراوانی و فراوانی نسبی بیماران مورد مطالعه بر حسب سن و جنس

سن به سال	مرد	زن	جمع
کمتر از ۱۰	۱۲ (۱۰/۴)	۹ (۸/۶)	۲۱ (۹/۵)
۱۰-۲۰	۱۴ (۱۲/۲)	۱۳ (۱۲/۴)	۲۷ (۱۲/۳)
۲۱-۳۰	۲۲ (۱۹/۱)	۱۷ (۱۶/۲)	۳۹ (۱۷/۷)
۳۱-۴۰	۲۵ (۲۱/۷)	۲۲ (۲۱)	۴۷ (۲۱/۴)
۴۱-۵۰	۲۲ (۱۹/۱)	۱۹ (۱۸)	۴۱ (۱۸/۶)
۵۱-۶۰	۲۰ (۱۷/۴)	۲۵ (۲۳/۸)	۴۵ (۲۰/۵)
۶۱-۷۰	-	-	-
۷۱-۸۰	-	-	-
بیش از ۸۰	-	-	-
جمع	۱۱۵ (۱۰۰)	۱۰۵ (۱۰۰)	۲۲۰ (۱۰۰)

شده مورد بررسی قرار داده‌ایم که نتایج بدست آمده طبق جداول شماره ۱ و ۲ و نمودارهای مربوطه بدین صورت است: از کل نمونه‌ها ۷۵ نمونه دارای نوعی باکتری پاتوژن بود. همانطور که در جدول شماره ۲ آمده است بیشترین تعداد مربوط به مایکوپلازما پنومونیه و استرپتوکوکوس پنومونیه یعنی ۱۷ مورد (۲۲/۷ درصد) و کمترین تعداد مربوط به مایکوباکتریوم توبریکولوزیس بوده که هیچ موردی از آن مشاهده نشده است. دیگر باکتریها نیز هر کدام نسبتهای متفاوتی را به خود اختصاص داده است. ضمناً نتایج مقاومت دارویی عوامل جدا شده بشرح زیر بدست آمده است.

- پنوموکک نسبت به پنی سیلین، آمپی سیلین، اریترومايسين، سفالوتین و کلرامفنیکل حساس بود.

- هموفیلوس آنفلوانزا نسبت به اریترومايسين، تتراسیکلین، کوتریموکسازول حساس و نسبت به کلرامفنیکل، آمپی سیلین حساسیتی متوسط و نسبت به پنی سیلین مقاوم بود.
- استافیلوکوکوس ارئوس نسبت به کارینی سیلین، سفالوتین، کلرامفنیکل، کلیندامایسین، وانکومايسين، کوتریموکسازول حساس و نسبت به پنی سیلین و تتراسیکلین حساسیتی متوسط داشت.
- کلبسیلا پنومونیه نسبت به آمیکاسین، توبرامايسين و جنتامايسين حساس و نسبت به سفالوتین، تتراسیکلین و نالیدیکسیک اسید حساسیتی متوسط و نسبت به آمپی سیلین و نیتروفورانتوئین مقاوم بود.

- پسودوموناس آئروجینوزا نسبت به جنتامايسين، کانامايسين، کارینی سیلین، آمیکاسین، کوتریموکسازول و کلرامفنیکل حساس و نسبت به توومايسين، نیتروفورانتوئین، تتراسیکلین، پنی سیلین و آمپی سیلین مقاوم بود. در مورد مایکوپلازما پنومونیه علاوه بر کشت نمونه‌ها و تشخیص باکتری، سرم بیماران را نیز از نظر آنتی بادی اختصاصی این باکتری با روش آگلوتیناسیون سرد، مورد بررسی قرار دادیم و نتایج بدست آمده بدین صورت است که از مجموع نمونه‌های مورد مطالعه فقط ۱۷ نمونه بیمار، دارای این باکتری بود. لازم به ذکر است که از نظر آزمایش آگلوتیناسیون سرد فقط سرم خون ۱۲ نفر در این گروه دارای تیتراژ آنتی بادی مثبت و بقیه منفی بودند (جدول شماره ۳).

جدول شماره ۳: تیتراژ آنتی بادی علیه مایکوپلازما پنومونیه در سرم بیماران تحت بررسی که از خلط آنها مایکوپلازما جدا شده

تیتراژ آنتی بادی	تعداد	درصد	تفسیر آزمایش
$< \frac{1}{32}$	۵	۲۹/۴	منفی
$\frac{1}{32}$	۳	۱۷/۶	مثبت
$\frac{1}{64}$	۵	۲۹/۴	مثبت
$\frac{1}{128}$	۴	۲۳/۵	مثبت
	۱۷	۱۰۰	

بحث

عفوئتهای دستگاه تنفس تحتانی از طریق استنشاق میکروبیهای موجود در هوا، اسپیراسیون، انتقال میکروب از یک کانون عفونی

جدول شماره ۴: توزیع فراوانی و فراوانی نسبی باکتریهای پاتوژن جدا شده از نمونه

باکتری	مرد	زن	جمع
مایکوپلازما پنومونیه	۹ (۲۶/۵)	۸ (۱۹/۵)	۱۷ (۲۲/۷)
مایکوباکتریوم توبریکولوزیس	-	-	-
استرپتوکوکوس پنومونیه	۷ (۲۰/۶)	۱۰ (۲۴/۴)	۱۷ (۲۲/۷)
کلبسیلا پنومونیه	۵ (۱۴/۷)	۷ (۱۷)	۱۲ (۱۶)
هموفیلوس آنفلوانزا	۴ (۱۱/۸)	۶ (۱۴/۶)	۱۰ (۱۳/۳)
استافیلوکوکوس ارئوس	۶ (۱۷/۶)	۹ (۲۲)	۱۵ (۲۰)
پسودوموناس آئرو جینوزا	۳ (۸/۸)	۱ (۲/۴)	۴ (۵/۳)
جمع	۳۴ (۱۰۰)	۴۱ (۱۰۰)	۷۵ (۱۰۰)

دور دست به این دستگاه از طریق گردش خون و یا انتقال مستقیم میکروب از یک کانون عفونی مجاور صورت می‌گیرد. اغلب عفونتهای ریوی در نتیجه راه یافتن فلوراروفارنکس که بطور طبیعی از مجموعه‌ای از باکتریهای هوازی و بیهوازی می‌باشد به داخل ریه اتفاق می‌افتد. بنابراین باکتریهای بالقوه پاتوژن مانند استرپتوکوکوس پنومونیا، هموفیلوس آنفلوانزا و استافیلوکوکوس اورئوس ممکن است در ترشحات اوروفارنکس اشخاص بالغ و سالم یافت شده بعضاً باعث بیماری گردند. باکتریهای مهم دیگر عامل عفونتهای ریوی را مایکوپلاسما پنومونیه، مایکوباکتریوم توبریکولوزیس، لژیونلا پنوموفیلا و موراکسلا می‌دانند. از گروه باکتریهای فوق که اغلب در بزرگسالان عفونتهای ریوی را باعث می‌گردند می‌توان استرپتوکوکوس پنومونیه، مایکوپلاسما پنومونیه و لژیونلا پنوموفیلا و در کودکان هموفیلوس آنفلوانزا، استرپتوکوکوس پنومونیه و استافیلوکوکوس اورئوس را نام برد. لازم به ذکر است که علاوه بر عوامل مذکور، فاکتورهائی مانند سن، مصرف سیگار و الکل و ابتلاء به بیماریهای تضعیف کننده سیستم ایمنی نیز در بروز عفونتهای ریوی دخالت دارند (۷، ۱۲، ۱۳).

نتایج تحقیقی که طی هشت سال صورت گرفت فراوانی عوامل مذکور را بدین صورت گزارش نموده‌اند: استرپتوکوکوس پنومونیه ۴۶ درصد، استافیلوکوکوس اورئوس ۶/۸ درصد، هموفیلوس آنفلوانزا ۳/۸ درصد، کلیسیلا پنومونیه ۱/۸ درصد، مایکوپلاسما پنومونیه ۵/۶ درصد و باکتریهای دیگر، شامل پسودوموناس آئروجینوزا، لژیونلا پنوموفیلا، مایکوباکتریوم توبریکولوزیس جمعاً ۹/۵ درصد. همچنین بررسی دیگری که طی سه سال (۱۹۷۹-۱۹۸۲) صورت گرفت فراوانی این باکتریها را بدین صورت گزارش نموده‌اند: استرپتوکوکوس پنومونیه ۲۱ درصد، استافیلوکوکوس اورئوس ۳/۴ درصد، هموفیلوس آنفلوانزا ۳/۲ درصد، کلیسیلا پنومونیه ۳ درصد، مایکوپلاسما پنومونیه ۳/۴ درصد و دیگر باکتریها مانند پسودوموناس آئروجینوزا، لژیونلا پنوموفیلا، مایکوباکتریوم توبریکولوزیس مجموعاً ۲۲ درصد. نتایج تحقیقات فوق و نیز دیگر پژوهشهای بعمل آمده، کم و بیش مؤید نتایج این تحقیق است (جدول شماره ۲) لیکن پیرامون نتایج مذکور می‌توان موارد ذیل را مطرح نمود:

۱- فراوانی باکتریهای عامل عفونتهای ریوی و بعضاً عدم حضور بعضی از این باکتریها در لیست گزارش شده محققین، مؤید این مطلب می‌باشد که وضعیت اقتصادی، بهداشتی، آداب و سنن جوامع و قومیت‌های مختلف، استعمال دخانیات و مصرف

مشروبات الکلی همگی در ترکیب فلورباکتریهای موجود در ترشحات اوروفارنکس اشخاص بالغ و سالم و نیز بروز عفونتهای مذکور نقش دارند. از طرفی مطمئناً فاکتورهای دیگری از جمله فراهم نمودن امکانات مناسب تحقیق و نیز تبحر پرسنل کارآزموده آزمایشگاهی باکتریولوژی در این رابطه مؤثر خواهد بود.

۲- اگرچه تشخیص باکتریهای عامل عفونتهای ریوی را اساس کارهای آزمایشگاهی باکتریولوژی می‌دانند، لیکن در بعضی از این عفونتها مانند عفونتهای ناشی از مایکوپلاسما پنومونیه و لژیونلا پنوموفیلا آزمایشهای سرولوژی نیز متداول است که در این رابطه می‌بایست در صورت امکان از روشهای استفاده نمود که حساسیتی بالا داشته و اختصاصی عمل نماید. آزمایشهای مناسب تشخیص مایکوپلاسما پنومونیه، DNA پروب و تشخیص ایمونوگلوبولین علیه P1 می‌باشد. با عنایت به عدم حضور این باکتری در لیست گزارش شده بسیاری از محققین، در این مطالعه سعی شده است با استفاده از روشهای کشت و آزمایش آگلوتیناسیون سرد باکتری مذکور را مورد بررسی قرار دهیم. (۵، ۱۰، ۱۲، ۱۳)

۳- نتایج مقاومت دارویی باکتریهای جدا شده و مقایسه آنها با گزارش دیگران:

- پنوموکک نسبت به پنی‌سیلین، آمپی‌سیلین، اریترومايسين، سفالوتین، کلرامفنیکل حساس بوده که با گزارش دیگران مطابقت دارد.

- هموفیلوس آنفلوانزا نسبت به اریترومايسين، تتراسیکلین، کوتریموکسازول حساس و نسبت به کلرامفنیکل و آمپی‌سیلین حساسیتی متوسط و نسبت به پنی‌سیلین مقاوم بوده در صورتیکه قبلاً این باکتری نسبت به آمپی‌سیلین و کلرامفنیکل حساس گزارش شده است.

- استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به کاربنی‌سیلین، سفالوتین، کلرامفنیکل، کلیندامایسین، وانکومايسين، کوتریموکسازول حساس و نسبت به پنی‌سیلین و تتراسیکلین حساسیتی متوسط داشته در حالی که قبلاً این باکتری نسبت به پنی‌سیلین و تتراسیکلین حساس گزارش شده است.

- کلیسیلا پنومونیه نسبت به آمیکاسین، توپرامایسین، جنتامایسین نسبتاً حساس و نسبت به سفالوتین، تتراسیکلین و نالیدیکسیک اسید حساسیتی متوسط و نسبت به آمپی‌سیلین و نیتروفورانتوئین، سفالوسیورین حساس گزارش شده است.

- پسودوموناس آئروجینوزا نسبت به جنتامایسین، کانامایسین، کاربنی‌سیلین، آمیکاسین، کوتریموکسازول و کلرامفنیکل حساس و

آندوسکوپی ریه بهارستان امام خمینی مخصوصاً استادان محترم آقاپان دکتر آملی و دکتر زاهدی پورانارکی و همکاران بخش باکتریولوژی دانشکده بهداشت خانمها، حافظی و شریعتی و از مرکز آموزش و تحقیقات بهداشتی یزد آقای غلامرضا حسن‌پور و نیز خانمها دکتر نبی‌زاده و دکتر بهرامی صمیانه تشکر می‌نماید.

نسبت به نئومایسین، نیتروفوراتوئین، تتراسیکلین، پنی‌سیلین و آمپی‌سیلین مقاوم بوده که با گزارش دیگران تقریباً مطابقت دارد (۱۹، ۱۱، ۶، ۴، ۱۰).

سپاسگزاری

بدین وسیله از دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران و کلیه همکاران بخش

منابع

- 1- Austrin R, Gold J. Pneumococcal pneumonia. *Ann. Intern. Med.* 1964, 60: 759-776
- 2- Baren D.J., Finegold S.M., Bailey and Scotts, *Diagnostic Microbiology*, 8th edition. The C.V. company washington D.C. 1990. P:223-237, A.L.A. 49.
- 3- Barlett J.C., Ryan K.J., Smith T.F. et al. Laboratory diagnosis of lower respiratory tract infection. American society for microbiology, washington D.C. 1987.
- 4- Carpenter J. Klebsiella pulmonary infections occurrence at one medical center and review. *Rev. Infect. Dis.* 1990. 12, p:672-682
- 5- Cimolai N, Cheong A.C.H. IgM anti-P1 Immunoblotting, A standard for the rapid serologic diagnosis of mycoplasma pneumonia infection in pediatric care, *Chest.* 1997. 102, p:477-481
- 6- Clark V.G., Brator D.K., Jononson A.A. *Got, s medical pharmacology*. 12th edition. printed in U.S.A. The C.V. Mosby company, washington, D.C. 1988. p:626-665
- 7- Ferreruela R.M., Farga M.A., Alearaz M.J. The mycoplasma isolated from respiratory specimens. *Med. Clin. Bard.* 1991.
- 8- Gassell G.H., Cole, B.C. Mycoplasma as agents of human disease. *N Engl J Med.* 1981. 304, p:80-89
- 9- Grayston J., Alexander E., Kenny G. et al. Mycoplasma pneumonia infections. clinical and epidemiologic studies. *JAMA.* 1965. 191. p:369-374
- 10- Hall C.B.D. et al. Isolation of mycoplasma pneumonia from bronchoalveolar fluid. *The journal of infectious disease.* 1987. Vol. 155, No.6, p:1339-1340
- 11- James B, Wolloyd H, Smith J.R. *Cecil essentials of medicine respiratory disease*. 3rd edition. Harcourt Brace Javanovic Inc. 1993. P: 126-162
- 12- Magayama U, Sakurai M. Isolation of mycoplasma with lower respiratory tract infection. *The journal of infectious disease.* 1988. 157 No. 5, P: 911- 917
- 13- Murray P.R., Kobayashi B.S., Pfaller M.A., Rosenthal K.S. *Medical microbiology* Mosby-Year book, Inc. 1994.
- 14- Murray P.R., Washington J. *Microscopic and bacteriology analysis of expectoriated sputum*. Mayo. Clin. Proc. 1975. 50. P:339- 344
- 15- Nobukiyo S and et al. Mycoplasma and other pathogens in the etiology of lower respiratory tract infectious among Japanese children. *Journal of infection.* 1988. vol. 6, P:253- 261
- 16- Parker R.H., Postgard M. Haemophilus influenzae respiratory infection in adults recognition and incidence. 1983. 73, 179
- 17- Shulman S.T., Phair J.P., Sommers H.M. *The biologic and clinical basis of infectious disease*. 4th edition, W.B. Saunders Company. 1992. P: 158-176
- 18- Sonnenwirth A.C., Jarett L. *Gradwhol, s clinical laboratory methods and diagnosis*, volume 2. 8th edition. C.V. Mosby company toronto. 1980. P:(1731-1844), (1391-1414)
- 19- Weatherall D.J., Ledingham J.G.G. *Oxford textbook of medicine, respiratory diseases*. Volume 2. 2nd edition published in U.S.A by oxford University press, Newyork. 1988. P:15, 1-150-177