

UNIVERZITET U BEOGRADU
MEDICINSKI FAKULTET

Biljana P. Međo

**UPOREDNO ISPITIVANJE KLASIČNIH I
MOLEKULARNIH METODA U
DIJAGNOSTICI PNEUMONIJE IZAZVANE
BAKTERIJOM *MYCOPLASMA*
PNEUMONIAE KOD DECE**

doktorska disertacija

Beograd, 2015.

UNIVERSITY OF BELGRADE
MEDICAL FAKULTY

Biljana P. Međo

**EVALUATION OF CLASSICAL AND
MOLECULAR METHODS FOR DIAGNOSIS
OF PNEUMONIA CAUSED BY BACTERIA
MYCOPLASMA PNEUMONIAE IN CHILDREN**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2015

Podaci o mentoru i članovima komisije

Mentor: Prof.dr Slobodanka Đukić, Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet

Komentor: Doc.dr Marina Atanasković-Marković, Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet

Članovi komisije:

1. Doc.dr Dimitrije Nikolić, Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet
2. Doc. dr Ivana Ćirković, Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet
3. Prof. dr Gordana Radosavljević- Ašić, Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet, profesor u penziji

ZAHVALNICA

Posebnu zahvalnost bi želela da iskažem

Prof. dr Slobodanki Đukić – mom mentoru, koja je osmislila ovo istraživanje, na nesebičnoj pomoći i podršci tokom istraživanja i izrade disertacije.

Doc.dr Marini Atanasković-Marković – mom komentoru, koja me je još kao mladog lekara uvela u pedijatriju i kasnije mi pomagala i podsticala u ostvarivanju novih ciljeva.

dr Snežani Radić na nesebičnoj i velikoj stručnoj i organizacionoj pomoći tokom ovog istraživanja.

Doc.dr Dimitriju Nikoliću na prijateljskoj i stručnoj pomoći i podršci koju mi je pružao sve vreme tokom trajanja ovog istraživanja i tokom izrade disertacije.

Doc.dr Ivani Ćirković na pomoći tokom istraživanja.

Prof. dr Gordana Radosavljević- Ašić na podršci mom celokupnom akademskom napredtku.

Svojoj porodici: Roditeljima Mirjani i Petru, na beskrajnoj ljubavi, na tome što su me uvek učili pravim vrednostima, na dragocenim savetima, verovanju u mene i neizmernoj podršci svemu što sam radila.

Mojoj majci Mirjani i ocu Petru posvećujem

ovaj rad sa zahvalnošću i ljubavi

UPOREDNO ISPITIVANJE KLASIČNIH I MOLEKULARNIH METODA U DIJAGNOSTICI PNEUMONIJE IZAZVANE BAKTERIJOM *MYCOPLASMA PNEUMONIAE* KOD DECE

SAŽETAK

Cilj: Da se odredi proporcija pneumonije uzrokovane bakterijom *Mycoplasma pneumoniae* (MP) kod dece uzrasta do 15 godina. Da se analiziraju kliničke, laboratorijske i radiografske karakteristike dece sa MP pneumonijom i da se uporede sa istim karakteristikama dece sa pneumonijom uzrokovanom drugim mikroorganizmima. Pored toga, da se odrede serumske vrednosti interleukina (IL) -4 i IL-10 kod dece sa pneumonijom i uporede sa vredostima kod dece koja nemaju MP pneumonij. Takođe, da se analiziraju dijagnostičke metode i odredi senzitivnost i specifičnost serološke metode, real-time PCR (reakcije lančane polimerizacije) metode i metode kultivisanja u dijagnostici pneumonije izazvane MP.

Metodologija: U ovu studiju uključeno je 166 dece uzrasta do 15 godina, sa van bolnički stečenom, radiografski verifikovanom pneumonijom, koja su pregledana u pedijatrijskoj ambulanti Univerzitetske Dečje klinike u Beogradu u period od dve godine. Svoj deci je na početku ovog istraživanja uzet uzorak krvi za osnovne laboratorijske analize, određivanje MP-specifičnih IgM i IgG antitela ELISA metodom i određivanje vrednosti IL-4 i IL-10 ELISA metodom. Dve do četiri nedelje kasnije, uzet je uzorak krvi u kome je ponovljeno serološko testiranje. Svoj deci su na početku istraživanja uzeta po dva brisa ždrela u kojima je MP identifikovana metodom kultivisanja i real-time (RT) -PCR metodom. Kod sve dece dalje je praćen klinički tok bolesti.

Rezultati: *Mycoplasma pneumoniae* je bila uzročnik pneumonije kod 14,5% dece sa van bolnički stečenom pneumonijom, pri čemu je zabeležena značajna razlika u distribuciji ispitanika prema uzrastu, 25% dece sa MP pneumonijom bilo je uzrasta do pet godina, dok je 75% dece sa MP pneumonijom bilo uzrasta pet do 15 godina ($p=0,003$). Infekcija MP je bila statistički značajno češća kod dečaka u odnosu na devojčice ($p=0,014$). Kod dece sa MP pneumonijom, povišena temperatura ($p=0,021$) i kašalj ($p=0,026$) su pre uključanja u studiju trajali značajno duže u odnosu na decu sa

pneumonijom koja nije uzrokovana MP. Deca sa MP pneumonijom češće su imala kašalj ($p=0,029$), glavobolja ($p=0,001$) i vizing ($p=0,036$) u poređenju sa decom sa pneumonijom uzrokovanom drugim mikroorganizimima. Logističkom regresijom utvrdili smo da su glavobolja (odnos šansi [OR]=36,077, $p=0,001$), vizing (OR=5,681, $p=0,003$), muški pol (OR=0,162, $p=0,003$) i uzrast preko 5 godina (OR=3,067, $p=0,047$) statistički značajno udruženi sa MP pneumonijom. Rutinski laboratorijski nalazi i radiografski nalaz se nisu značajno razlikovali kod dece sa MP pneumonijom i kod dece sa pneumonijom uzrokovanom drugim mikroorganizimima. Povišena temperature ($p=0,027$), kašalj ($p=0,015$) i hospitalizacija ($p=0,001$) su značajno duže trajali kod dece sa MP pneumonijom u odnosu na decu sa pneumonijom koja nije uzrokovana MP. Sva deca sa MP pneumonijom su se u potpunosti oporavili bez komplikacija bolesti. Nije zabeležena statistički značajna razlika u serumskim vrednostima IL-4 kod dece sa MP pneumonijom i kod dece sa pneumonijom koja nije uzrokovana MP. Nije utvrđena ni značajna razlika u vrednostima IL-4 kod dece sa MP pneumonijom u odnosu na prisustvo vizinga. Deca sa MP pneumonijom imala su značajno više serumske vrednosti IL-10 u odnosu na decu sa pneumonijom uzrokovanom drugim mikroorganizimima ($p=0,022$). Pored toga, deca sa MP infekcijom i vizingom imala su značajno više serumske vrednosti IL-10 u poređenju sa decom sa MP infekcijom koja nisu imala vizing ($p=0,027$). Posmatrajući IgG serološku metodu u parnom serumu kao zlatni standard, utvrdili smo da su IgM serologija, RT-PCR metoda i kultura imale jednaku senzitivnost od 82%, dok je specifičnost svake od ovih metoda bila 100%, 99% i 100%. Pored toga, utvrdili smo da je kombinacijom IgM serološke metode u serumu u akutnoj fazi bolesti i RT-PCR metodom dijagnostikivano 92% dece sa MP pneumonijom.

Zaključak: *Mycoplasma pneumoniae* je bila uzročnik pneumonije kod 14,5% dece sa van bolnički stečenom pneumonijom. Na osnovu rutinskih laboratorijskih nalaza i radiografskog nalaza nije moguće razlikovati MP pneumoniju od pneumonije uzrokovane drugim mikroorganizimima, ali pojedine kliničke karakteristike kao što su glavobolja i vizing mogu da ukažu na MP infekciju. Serumske vrednosti IL-10 bile su značajno više kod dece sa MP pneumonijom u odnosu na decu koja nemaju MP pneumoniju. Deca sa MP pneumonijom i vizingom imala su značajno više vrednosti IL-10 u poređenju sa decom koja nemaju vizinga. Određivanje IgM antitela u serumu u

akutnoj fazi bolesti u kombinaciji sa RT-PCR metodom omogućava ranu i pouzdanu dijagnozu MP pneumonije kod dece u akutnoj fazi bolesti.

Ključne reči: *Mycoplasma pneumoniae*, deca, dijagnoza, pneumonija, interleukini

Naučna oblast: pedijatrija

Uža naučna oblast: pedijatrijska pulmologija

EVALUATION OF CLASSICAL AND MOLECULAR METHODS FOR DIAGNOSIS OF PNEUMONIA CAUSED BY BACTERIA *MYCOPLASMA PNEUMONIAE* IN CHILDREN

ABSTRACT

Aim: To assess the proportion of pneumonia caused by bacteria *Mycoplasma pneumoniae* (MP) in children less than 15 years old and find clinical, radiological and laboratory features helpful to diagnose MP pneumonia. To determine the serum levels of interleukin (IL) -4 and IL-10 in children with MP pneumonia and to compare them with children with non-MP pneumonia. Furthermore, to evaluate the value of serology, real-time PCR (RT-PCR) and culture for the accurate diagnosis of MP pneumonia.

Methods: The study included 166 children aged less than 15 years with radiologically confirmed community-acquired pneumonia (CAP) examined in the Pediatric department of University Children's Hospital in Belgrade during two years. Blood samples were taken at enrolment for common laboratory parameters, detection of MP-specific IgM and IgG antibodies using ELISA and for measurement of IL-4 and IL-10 using ELISA. Two to 4 weeks after enrolment, convalescent blood sample were obtained for antibody measurements. Two throat swabs obtain at enrolment from each child, were cultured and assessed by RT-PCR for the presence of MP. Data regarding clinical course of illness were also recorded.

Results: *Mycoplasma pneumoniae* infection was diagnosed in 14,5% children with CAP, with significant difference in the age distribution, 25% of them were below 5 years and 75% were between 5-15 years old ($p=0,003$). *Mycoplasma pneumoniae* infection was present in boys more often than in girls ($p=0,014$). Children with MP pneumonia had longer duration of fever ($p = 0,021$) and cough before enrolment ($p=0,026$) compared to children with non-MP pneumonia. Cough ($P=0,029$), headache ($P= 0,001$) and wheezing ($P=0,036$) were more frequent in children with MP pneumonia. Logistic regression analysis showed that headache (odds ratio [OR] =36,077, $p = 0,001$), wheezing (OR=5,681, $p=0,003$), male gender (OR=0,162, $p=0,003$) and age 5 years and older (OR=3,067, $p=0,047$) were significantly associated with MP pneumonia. No significant difference was observed in relation to radiological and

laboratory findings in the children with MP pneumonia and those with pneumonia caused by other pathogens. Children with MP pneumonia had longer total duration of fever ($p=0,027$), cough ($p=0.015$) and length of hospitalization ($p=0,001$) compared to children with non-MP pneumonia. All children recovered without any of complication associated with MP infection. We did not find significant difference in serum level of IL-4 in children with and without MP infection. No significant difference was observed in level of IL-4 in the children with MP pneumonia, who did or did not have wheezing as well. A significant higher serum level of IL-10 was found in children with MP infection than in children with pneumonia caused by other pathogens ($p=0,022$). Moreover, children with MP pneumonia and wheezing had significantly higher serum level of IL-10 compared to children with MP pneumonia and without wheezing ($p=0,027$). Using IgG serology in paired sera as the gold standard, we found that sensitivity of IgM serology, RT-PCR and culture was equal 82%, while specificity values were 100%, 99% and 100% respectively. Additionally, we observed that combination of IgM detection in acute-phase serum and RT-PCR was positive for 92% of cases with MP infection.

Conclusions: *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia was diagnosed in 14,5% CAP cases. There are no characteristic radiological findings, or routine laboratory tests that would distinguish pneumonia caused by MP from pneumonia caused by other pathogens. We found that some clinical features such as headache and wheezing are indicative for MP infection. A significant higher serum level of IL-10 was found in children with MP infection than in children without MP infection. Children with MP pneumonia and wheezing had significantly higher serum level of IL-10 compared to children with MP pneumonia and without wheezing. Furthermore, we found that detection of IgM antibodies in acute-phase serum in combination with RT-PCR allows for precise and reliable diagnosis of MP pneumonia in children during the acute phases of disease.

Key words: *Mycoplasma pneumoniae*, children, diagnosis, pneumonia, interleukins.

Scientific field: pediatrics

Scientific subfield: pediatric pulmonology

SADRŽAJ

1. Uvod.....	1
1.1. Taksonomija i opšte osobine mikoplazmi	1
1.2. Patogeneza respiratorne <i>Mycoplasma pneumoniae</i> infekcije.....	2
1.3. Imunski odgovor.....	3
1.4. Uloga infekcije bakterijom <i>Mycoplasma pneumoniae</i> u astmi.....	5
1.5. Epidemiologija.....	6
1.6. Kliničke manifestacije respiratorne <i>Mycoplasma pneumoniae</i> infekcije.....	9
1.7. Vanplućne manifestacije respiratorne <i>Mycoplasma pneumoniae</i> infekcije.....	10
1.8. Dijagnostika pneumonije uzrokovane bakterijom <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	13
1.8.1. Radiografski nalaz.....	14
1.8.2. Laboratorijska dijagnostika.....	15
1.8.3. Patološki nalaz.....	15
1.8.4. Mikrobiološka dijagnostika.....	16
1.8.4.1. Kultivisanje.....	16
1.8.4.2. Serološke metode.....	17
1.8.4.3. Reakcija lančane polimerizacije (PCR).....	19
1.9. Terapija.....	21
2. Ciljevi rada	24
3. Materijal i metodi.....	25

3.1. Bolesnici.....	25
3.2. Mikrobiološka dijagnostika.....	26
3.2.1. Izolacija i identifikacija bakterije <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	26
3.2.1.1. Izolacija bakterije <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	26
3.2.1.2. Identifikacija bakterije <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	27
3.2.2. Real-time PCR metoda.....	28
3.2.2.1. Izolovanje bakterijske DNK.....	28
3.2.2.2. Real-time PCR za određivanje genoma bakterije <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	29
3.2.3. Serološka dijagnostika.....	30
3.2.3.1. ELISA test za detekciju specifičnih antitela klase M.....	30
3.2.3.2. ELISA test za detekciju specifičnih antitela klase G.....	30
3.2.4. Definicija akutne infekcije uzrokovane bakterijom <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	31
3.3. Određivanje vrednosti serumskih citokina.....	31
3.3.1. Određivanje vrednosti IL-4.....	31
3.3.2. Određivanje vrednosti IL-10.....	31
3.4. Statistička analiza.....	32
4. Rezultati.....	33
4.1. Demografski podaci svih ispitanika.....	33
4.2. Pneumonija uzrokovana bakterijom <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	33

4.3. Demografski podaci.....	34
4.4. Kliničke karakteristike bolesti i anamnestički podaci.....	36
4.4.1. Klinička prezentacija.....	36
4.4.1.1. Trajanje bolesti pre uključenja u studiju.....	36
4.4.1.2. Povišena temperatura.....	36
4.4.1.3. Kašalj.....	38
4.4.1.4. Simptomi infekcije gornjih disajnih puteva.....	40
4.4.1.5. Otežano disanje.....	40
4.4.1.6. Bol u grudima.....	40
4.4.1.7. Glavobolja.....	41
4.4.1.8. Gubitak apetita.....	41
4.4.1.9. Povraćanje.....	42
4.4.1.10. Dijareja.....	42
4.4.1.11. Bol u stomaku.....	42
4.4.2. Antibiotička terapija.....	42
4.4.3. Atopija i astma.....	43
4.4.4. Fizikalni nalaz na uključenju u studiju.....	44
4.4.4.1. Hiperemija ždrela.....	44
4.4.4.2. Obrazac disanja.....	44
4.4.4.3. Auskultatorni nalaz na plućima.....	45

4.4.5. Udruženost demografskih i kliničkih karakteristika sa pneumonijom uzrokovanom bakterijom <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	47
4.5. Laboratorijski nalazi.....	47
4.5.1. Hematološki analizi.....	47
4.5.1.1. Lekociti.....	47
4.5.1.2. Trombociti.....	48
4.5.1.2. Eritrociti.....	49
4.5.2. Biohemijski nalazi.....	49
4.5.2.1. C reaktivni protein.....	49
4.5.2.2. Ostali biohemijski nalazi.....	50
4.6. Radiografski nalaz.....	51
4.7. Klinički tok i komplikacije bolesti.....	52
4.8. Kliničke, laboratorijske i radiografske karakteristike dece sa pneumonijom uzrokovanom bakterijom <i>Mycoplasma pneumoniae</i> uzrasta mlađeg od pet godina i dece uzrasta pet do 15 godina.....	56
4.8.1. Demografski podaci dece sa pneumonijom uzrokovanom bakterijom <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	57
4.8.2. Klinička prezentacija dece sa pneumonijom uzrokovanom bakterijom <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	58
4.8.2.1. Trajanje bolesti pre uključenja u studiju dece sa pneumonijom uzrokovanom bakterijom <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	58
4.8.2.2. Povišena temperatura kod dece sa pneumonijom uzrokovanom bakterijom <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	58

4.8.2.3. Kašalj kod dece sa pneumonijom uzrokovanom bakterijom <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	59
4.8.2.4. Simptomi infekcije gornjih disajnih puteva kod dece sa pneumonijom uzrokovanom bakterijom <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	60
4.8.2.5. Otežano disanje dece sa pneumonijom uzrokovanom bakterijom <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	60
4.8.2.6. Bol u grudima kod dece sa pneumonijom uzrokovanom bakterijom <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	61
4.8.2.7. Glavobolja kod dece sa pneumonijom uzrokovanom bakterijom <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	62
4.8.2.8. Gubitak apetita kod dece sa pneumonijom uzrokovanom bakterijom <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	62
4.8.2.9. Povraćanje kod dece sa pneumonijom uzrokovanom bakterijom <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	62
4.8.2.10. Dijareja kod dece sa pneumonijom uzrokovanom bakterijom <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	63
4.8.2.11. Bol u stomaku kod dece sa pneumonijom uzrokovanom bakterijom <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	63
4.8.3. Antibiotaska terapija dece sa pneumonijom uzrokovanom bakterijom <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	63
4.8.4. Atopija i astma kod dece sa pneumonijom uzrokovanom bakterijom <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	64
4.8.5. Fizikalni nalaz na uključenju u studiju kod dece sa pneumonijom uzrokovanom bakterijom <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	65

4.8.5.1. Hiperemija ždrela kod dece sa pneumonijom uzrokovanom bakterijom <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	66
4.8.5.2. Obrazac disanja kod dece sa pneumonijom uzrokovanom bakterijom <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	66
4.8.5.3. Auskultatorni nalaz na plućima dece sa pneumonijom uzrokovanom bakterijom <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	57
4.8.6. Laboratorijski nalazi kod dece sa pneumonijom uzrokovanom bakterijom <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	68
4.8.6.1. Lekociti kod dece sa pneumonijom uzrokovanom bakterijom <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	68
4.8.6.2. Trombociti kod dece sa pneumonijom uzrokovanom bakterijom <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	69
4.8.6.3. Eritrociti kod dece sa pneumonijom uzrokovanom bakterijom <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	70
4.8.6.4. C reaktivni protein kod dece sa pneumonijom uzrokovanom bakterijom <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	70
4.8.7. Radiografski nalaz dece sa pneumonijom uzrokovanom bakterijom <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	71
4.9. Serumske vrednosti Interleukina-4 kod ispitivane dece.....	72
4.10. Serumske vrednosti Interleukina-10 kod ispitivane dece.....	74
4.11. Dijagnostičke metode.....	78
4.11.1 Analiza osetljivosti i specifičnosti dignostičkih metoda.....	79
5. Diskusija.....	81

5.1. Demografske i kliničke karakteristike.....	81
5.2. Laboratorijske i radiografske karakteristike.....	86
5.3. Klinički tok bolesti.....	88
5.4. Karakteristike pneumonije uzrokovane bakterijom <i>Mycoplasma pneumoniae</i> kod dece uzrasta mlađeg od pet godina i dece uzrasta pet do 15 godina.....	90
5.5. Vrednosti serumskih citokina kod dece sa pneumonijom uzrokovanom bakterijom <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	92
5.6. Poređenje dijagnostičkih metoda.....	96
6. Zaključak.....	100
7. Literatura.....	105
Spisak skraćenica.....	125
Biografija autora.....	126

1. UVOD

1.1. Taksonomija i opšte osobine mikoplazmi

Mikoplazme su najsitnije bakterije sposobne za samostalan život kako po dimenzijama (150-200nm), tako i po veličini genoma (580-2200Kbp) (1). Pripadaju klasi *Mollicutes*, familiji *Mycoplasmataceae* i redu *Mycoplasmatales* (1). Zbog nedostatka ćelijskog zida prirodno su otporne na antibiotike koji sprečavaju njegovu sintezu (beta-laktamski antibiotici), ne mogu da se boje po Gramu i pleomorfno su izgleda. Do danas je identifikovano 16 humanih vrsta mikoplazmi, od kojih je samo šest patogeno za čoveka: *M. fermentans*, *M. hominis*, *M. genitalium*, *M. pneumoniae*, *Ureoplasma urealyticum* i *U. parvum*. *Mycoplasma pneumoniae* je najznačajnija i jedina striktno patogena vrsta iz ove grupe bakterija (1).

Mycoplasma pneumoniae (MP) je prvi put izolovana četrdesetih godina prošlog veka iz sputuma bolesnika sa atipičnom pneumonijom i po autoru dobila naziv Etanov agens (2). Naime, zapaženo je da kod nekih bolesnika sa pneumonijom nema poboljšanja nakon primene penicilinskih antibiotika i sulfonamida, te su takve pneumonije nazivane atipičnim. Dve decenije kasnije, ovaj mikroorganizam za koga se inicijalno verovalo da je virus, nazvan je *Mycoplasma pneumoniae* (od Grčke reči „mykes“ koja u prevodu znači gljiva i „plasma“ koja u prevodu znači formirano) (3). Danas je poznato da se genom MP sastoji od 816,394bp sa 687 gena (4). Ovako mali genom MP i ograničene biosintetske sposobnosti utiču na mnoge biološke karakteristike MP, razlog su parazitskog ili saprofitnog preživljavanja MP i neophodnosti posebnih uslova za kultivisanje u in vitro uslovima (5). Napredak u razumevanju patogeneze MP infekcije, kao i razvoj novih dijagnostičkih metoda, posebno u oblasti molekularne biologije, doveli su do saznanja da je MP čest respiratorni patogen u svim uzrastnim grupama bolesnika (6).

1.2. Patogeneza respiratorne *Mycoplasma pneumoniae* infekcije

Mycoplasma pneumoniae ima selektivni afinitet za ćelije respiratornog epitela. Nakon inhalacije, vezuje se za cilije na površini ćelija respiratorne sluzokože domaćina preko posebne terminalne organele za pričvršćivanje. Ova organela za pričvršćivanje se sastoji iz proteina veličine 170 kD, označenog kao P1 adhezina, ali i drugih pomoćnih proteina poput HMW1, HMW2, HMW3, P90, P40 i P30 (6). Pomenuti protein P1 adhezina, pored značajne uloge u patogenezi respiratorne infekcije, ima ulogu i u indukovanju produkcije specifičnih antitela. Vezivanje MP za cilije respiratornih ćelija štiti ovu bakteriju od uklanjanja mehanizmom mukocilijarnog klirensa i omogućava stvaranje različitih citotoksičnih efekata. Nakon vezivanja za ćelije respiratorne sluzokože, MP stvara vodonik peroksid i superoksidne radikale koji dovode do oksidativnog stresa i oštećenja respiratornih ćelija. Vodonik peroksid oštećuje membranu eritrocita i u in vitro uslovima uzrokuje hemolizu, promenu eritrocitnog antigena i hladnu aglutinaciju, što dovodi do aglutinacije eritrocita in vitro na temperaturi od 4°C (1,2). Ovi hladni aglutinini se mogu otkriti u preko 50% bolesnika sa MP pneumonijom (5). Takođe, pokazano je da superoksidni anjon koji stvara MP inhibira katalazu u ćelijama domaćina i na taj način smanjuje enzimsku razgradnju peroksida, čineći ćelije domaćina još osjetljivijim na oksidativno oštećenje (6). Iako se tokom mnogo godina verovalo da sama MP za razliku od drugih humanih patogena ne stvara toksin, nedavno sprovedena istraživanja su pokazala suprotno. Izolovan je protein sličan toksinu pertuzisa koji se vezuje za protein A surfaktanta i koji dospeva u ćelije domaćina endocitozom, a koji je nazvan u okruženju stečen respiratorni distres sindrom (community acquired respiratory distress syndrome – CARDS) toksin (7). Ovaj toksin dovodi do gubitka cilijane aktivnosti, ali i do vakuolizacije i eksfoliacije ćelija sluzokože. Pored toga, stimuliše stvaranje proinflamatornih citokina i celularni imunološki odgovor i na taj način uzrokuje oštećenje disajnih puteva (8). Dalja istraživanja su pokazala da količina stvorenog toksina korelira sa težinom bolesti (9).

Podaci iz literature pokazuju je da je MP primarno ekstracelularni patogen i da boravi na površini ćelija respiratorne sluzokože (1). Međutim nedavno je opisan intracelularni rast i mogućnost replikacije ove bakterije unutar ćelija u kulturi tkiva, tako da

danas kod najvećeg broja istraživača prevladava stav da je to fakultativno intracelularna bakterija (6,10). Intracelularna lokalizacija mogla bi da objasni meke od kliničkih karakteristika MP infekcije, kao što su nastanak latentne ili hronične infekcije, ograničenu efikasnost nekih antibiotika i izbegavanje imunskog odgovora domaćina (6).

Kada MP dospe u donje delove disajnih puteva, dolazi do opsonizacije antitelima ili komplementom, a zatim i do fagocitoze aktiviranim makrofagima. Nastaje lokalni inflamatorni odgovor i infiltracija pluća neutrofilima, T i B limfocitima i plazma ćelijama. Potom dolazi do proliferacija limfocita, stvaranja antitela i oslobađanja citokina kao što su faktor nekroze tumora α (TNF- α), interferon γ (IFN- γ), interleukina (IL) -1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8 IL-10 i IL-18 (1). Brojna istraživanja su pokazala da MP direktno aktivira i stimuliše stvaranje citokina u leukocitima, respiratornim epitelinim ćelijam i makrofagima (6, 11). Takođe, mnoge sprovedene studije su utvrdile da je koncentracija mnogih od ovih citokina povišena kako u bronhoalveolarnom lavatu (BAL), tako i u serumu kod bolesnika sa MP infekcijom (12-14). Uloga citokina i drugih reaktivnih supstanci u patogenezi infekcija uzrokovanih MP je ispitivana u mnogim eksperimentalnim i kliničkim studijama. Dobijeni rezultati pokazuju da stvaranje citokina i aktivacija limfocita mogu da ublaže klinički tok bolesti aktivirajući i pojačavajući odbrambene mehanizme domaćina, ali s druge strane mogu i da pogoršaju tok bolesti razvojem imunoloških lezija. Što je snažniji celularni imunski odgovor i što je veća produkcija citokina, teža su plućna oštećenja, a samim tim i klinička slika bolesti (15-17). Stoga izgleda da u velikoj meri, tok i ishod bolesti zavise od imunskog odgovora domaćina (18).

1.3. Imunski odgovor

Mycoplasma pneumoniae poseduje različite proteinske i glikolipidne antigene koji mogu da pokrenu imunski odgovor i dovede do stvaranja antitela kod inficirane osobe. Pomenuti protein P1 koji čini najznačajniju komponentu organela za pričvršćivanje i koji ima značajnu ulogu u patogenezi respiratorne infekcije, indukuje stvaranje specifičnih antitela i često se koristi u serološkim ispitivanjima.

Nakon inicijalne infekcije MP, dolazi do stvaranja antitela u narednih tri do šest nedelja. S obzirom na dugačak inkubacioni period (jedne do tri nedelje), imunski odgovor je najčešće prisutan u vreme kada se pojave simptomi bolesti. Specifična antitela klase M se pojavljuju sedam dana posle početka infekcije i dostižu maksimum nakon tri do šest nedelja, a potom postepeno počinju da opadaju. Međutim, ova antitela ponekad mogu biti prisutna u krvi i nekoliko mesec nakon infekcije. Specifična antitela klase IgG se tipično pojavljuju dve nedelje nakon IgM antitela i perzistiraju u krvi nekoliko godina nakon infekcije (1). Značaj humoralnog imunskog odgovora u zaštiti od MP infekcije je velik, što potvrđuje i zapažanje da bolesnici sa urođenom hipogamaglobulinemijom imaju hroničnu MP respiratornu infekciju i čestu vanplućnom diseminaciju uzročnika (1).

Pored MP specifičnih antitela, tokom MP infekcije dolazi do stvaranja i različitih, unakrsno reaktivnih antitela. Homologe sekvence adhezionih proteina i glikolipida ćelijske membrane MP i različitih humanih tkiva su dobro poznat primer molekularne mimikrije. Molekularna mimikrija može da dovede do autoimunskih poremećaja, stvaranjem antitela prema miozinu, keratinu, fibrinogenu, moždanom, bubrežnom, jetrinom, glatko mišićnom i plućnom tkivu (1). Takođe, otkriveno je da adhezioni proteini MP poseduje homologe sekvence amino kiselina sa CD4 T limfocitima i limfocitnim proteinima u sklopu glavnog histokompatibilnog kompleksa (MHC) klase II, što može da dovede do stvaranja autoreaktivnih antitela, indukuje ubijanje ćelija i immunosupresiju (19). Pored toga, pokazalo se da tokom akutne MP infekcije dolazi i do stvaranja cirkulišućih imunskih kompleksa (1). Smatra se da ovi mehanizmi igraju značajnu ulogu u patogenezi vanplućnih manifestacija MP infekcije.

Mnoga sprovedena istraživanja govore u prilog tome da ćelijski imunski odgovor ima takođe značajnu ulogu u odbrani od MP infekcije. Fernald i saradnici su u svom istraživanju utvrdili, da se limfociti osobe koja je prethodno imala MP infekciju blastno transformišu kada se kultivišu u prisustvu MP (20). Dalja istraživanja su pokazala da leukociti osobe sa MP infekcijom pokazuju hemotaksu u prisustvu ove bakterije, kao i da inficirane osobe reaguju sa povećanim stvaranjem IFN- α , zbog čega je i koncentracija ovog citokina povišena u krvi kod ovih bolesnika (21,22).

Karakteristika mnogih vrsta mikoplazmi koja utiče na imunski odgovor domaćina je njihova sklonost ka mitogenoj stimulaciji B i T limfocita, kao i sklonost ka autoimunim bolestima usled aktivacije autoimunih T ćelija i poliklonalnih B limfocita (1).

1.4. Uloga infekcije bakterijom *Mycoplasma pneumoniae* u astmi

Sedamdesetih godina prošlog veka Berkovich i saradnici su predložili teoriju da bi hronična infekcija MP mogla imati ulogu u patogenezi astme (23). Dalja istraživanja sprovedena tokom poslednje četiri decenije ukazuju da ova bakterija, ne samo da ima ulogu u patogenezi astme, već i u nastanku akutne egzacerbacije astme (6,24). Kao prvo, pokazano je da se MP značajno češće izoluje kod bolesnika sa astmom nego kod zdravih osoba. Kraft i saradnici izolovali su MP metodom PCR (reakcija lančane polimerizacije) iz respiratornog sekreta kod 10 od 18 (56%) adultnih bolesnika sa astmom i samo kod jedne od 11 (9%) zdravih osoba (25). Slična zapažanja, navedena su i u drugim studijama. Gil i saradnici su metodom kultivisanje bakterije iz brisa ždrela izolovali MP kod 25% dece i odraslih u fazi akutne egzacerbacije astme i samo kod 6% zdravih osoba (26). Biscardi i saradnici su PCR metodom i serologijom dokazali MP infekciju kod 50% dece sa prvim napadom astme (27). Kao drugo, dokazano je da primena makrolidnih antibiotika kod bolesnika sa astmom i MP infekcijom popravlja plućna funkciju u odnosu na bolesnike sa astmom koji nemaju MP infekciju (28). Kao treće, eksperimentalnim studijama utvrđeno je da MP može da izazove pneumoniju, stvaranje citokina, bronhijalnu hiperreaktivnost slično hroničnoj astmi i dominantan imunološki odgovor T helper 2 ćelija (Th2 odgovor), koji omogućava preživljavanje MP u plućima (29). Martin i saradnici su pokazali da je ova bronhijalna hiperreaktivnost izraženija, ukoliko su eksperimentalne životinje bile prvo alergijski senzibilisane (što je faktor rizika za nastanak astme), a potom inficirane MP (30). Kao četvrto, pokazalo se da MP indukuje stvaranje mnogih inflamatornih medijatora kao što su IgE, IL-4 i IL-5 koji imaju ulogu u patogenezi astme, ali i u egzacerbaciji astme i nastanku vizinga. Istraživanje sprovedeno krajem devedestih godina prošlog veka je pokazalo, da je kod dece sa početkom astme i MP infekcijom povišen nivo ukupnih IgE antitela u serumu, ali i povećana sinteza specifičnih IgE antitela na MP, kao i na mnoge

druge alergene (31). Koh i saradnici su pokazali da su koncentracija IL-4 i odnos IL-4 / IFN- γ u BAL značajno viši kod dece sa MP pneumonijom u poređenju sa decom koja imaju pneumokoknu pneumoniju i zdravom decom. Poznato je da IL-4 stimuliše B limfocite na sekreciju IgE, dok je IFN- γ inhibitor sinteze IgE. *Mycoplasma pneumoniae* dovodi do destrukcije ćelija respiratorne sluzokože što može olakšati penetraciju alergena u mukoza. Stvaranje ovih citokina uz povećanu ekspoziciju alergenima kod bolesnika sa MP infekcijom dovodi do nastanka IgE poredovanog imunog odgovora koji rezultira oslobađanjem hemijskih medijatora koji dovode do bronhospazma, inflamacije u disajnim putevima i bronhijalne hiperreaktivnosti (12). Eposito i saradnici su u svojoj studiji analizirali 25 dece sa akutnom epizodom vizingom, od kojih je 15 dece imalo dokazanu MP i poredili ih sa osmoro dece sa asimptomatskom MP infekcijom i 16 zdrave dece. Pokazalo se da su deca sa akutnim vizingom i MP infekcijom imala značajno višu koncentraciju IL-5 u serumu, u poređenju sa decom sa asimptomatskom MP infekcijom i zdravom decom. Pomenuti autori su zaključili da MP kod predisponiranih osoba može da trigeruje nastanak vizinga preko IL-5 (32). U prilog tome govore i ranije sprovedena istraživanja koja su potvrdila značajnu ulogu IL-5 u nastanku bronhijalne hiperreaktivnosti udružene sa virusnim infekcijama, a posebno sa infekcijom respiratornog sincicijalnog virusa (33,34).

1.5. Epidemiologija

Nedostatak brzih i preciznih dijagnostičkih testova za dokazivanje MP infekcija u prošlosti, otežali su razmevanje epidemioloških karakteristika MP i doprineli potcenjivanju učestalosti ovih infekcija u svakodnevnoj kliničkoj praksi. Poznato da MP može biti uzročnik infekcija gornjih i donjih disajnih puteva, kako u pedijatrijskoj, tako i u adultnoj populaciji. Ove infekcije mogu da se jave endemski, ili pak epidemijski na svakih četiri do sedam godina (1). Pored toga, epidemije mogu da se jave povremeno u zatvorenim zajednicama kao što su vojne baza, škole i različite ustanove za smeštaj obolelih lica. Iako se incidenca MP pneumonija ne menja značajno u zavisnosti od godišnjeg doba, pojedini autori opisuju da je najviše obolelih tokom leta, kada je najmanja incidenca drugih respiratornih patogena (35,36). Principi i saradnici su utvrdili da je najveća incidenca MP

infekcija u Italiji između maja i jula meseca (37). Epidemije pneumonija uzokovanih MP su takođe, najčešće opisivane tokom leta i rane jeseni (35,38). Dugačak inkubacioni period, slaba transmisija uzročnika i perzistiranje uzročnika različit vremenski period nakon infekcije mogu da objasne produženo trajanje epidemija MP infekcija (u proseku oko jedne godine) (11). Noviji podaci u literaturi ukazuju da varijacije u primarnoj strukturi P1 adhezina igraju značajnu ulogu u nastanku i ponavljanju epidemija MP infekcija (6,11). Dokazano je da se dva podtipa MP koji su izolovani iz respiratornih sekreta razlikuju u sekvencama amino kiselina i nekleotida P1 adhezina i njegovog kodirajućeg gena (39). Istraživanje iz Japani u kome je analiziran P1 gen je pokazalo da je između 1995. i 2001. godine bio dominantan MP podtip II, a da je u periodu od 2002. do 2005. godine preovladavao MP podtip I (40). S obzirom da se ovi podtipovi MP tokom vremena menjaju, varijacije u P1 adhezinu mogu biti udružene sa kratkotrajnim imunitetom na određeni podtip, razvojem specifičnih antitela za određeni podtip i čestim reinfekcijama drugim podtipom (11).

Mycoplasma pneumoniae ne predstavlja deo fiziološke respiratorne flore, pa se izolacija ove bakterije kulturom kod osobe sa kliničkom slikom infekcije, smatra patološki i etiološki signifikantna (1). Međutim, ova bakterija može da perzistira u respiratornom traktu duži vremenski period, nakon infekcije koja je antibioticima adekvatno lečena. Ovo perzistiranje MP može da se objasni snažnim pričvrćivanjem i prodiranjem MP u epitelne ćelije respiratornog trakta i činjenicom da su makrolidni i tetraciklinski antibiotici koji se koriste u lečenju MP infekcija bakteriostatici (1).

Infekcija MP se prenosi direktnim kontaktom ili kapljičnim putem, a inkubacioni period traje od jedne do tri nedelje. Kod osobe sa aktivnom MP infekcijom ova bakterija je prisutna u nosu, grlu, traheji i sputumu. Širenje infekcije je znatno olakšano aktom kašlja inficiranih osoba. Mnogobrojne studije su pokazale, da pored toga što MP može da perzistira u respiratornom traktu duži vremenski period nakon infekcije, neke osobe mogu imati asimptomatsku infekciju, što takođe olakšava širenje MP na druge osobe (1, 41, 42).

Većina inficiranih bolesnika razvije traheobronhitis ili infekciju gornjih disajnih puteva, a samo 3-10% inficiranih razvije pneumoniju (42). Pojedina autori su utvrdili da čak 50% bolesnika sa MP infekcijom razvije infekciju gornjih disajnih puteva (43). Eposito i saradnici su u studiji sprovedenoj u Italiji, dokazali akutnu MP infekciju kod 23% dece sa nestreptokoknim faringitisom (44). Isti autori su potom utvrdili da je MP češći uzročnik faringitisa u odnosu na *Streptococcus pyogenes*, kao i da je posle respiratornih virusa MP najčešći uzročnik faringitisa kod dece (45). Prema podacima iz literature oko 20% infekcija uzrokovanih MP je asimptomatsko (46).

Prevalenca pneumonije uzrokovane MP prema podacima iz literature varira, u zavisnosti od populacije koja je proučavana i dijagnostičkih metoda koje su korišćene (kultivisanje, serologija, PCR ili kombinacija neke od ovih metoda). Smatra se da je MP uzročnik u 20-40% van bolnički stečenih pneumonija kod ambulatno lečene dece, i u 18% pneumonija kod hospitalizovane dece (1,35,37,47). Pojedini autori navode da je prevalenca znatno niža, svega 7-10% od svih van bolnički stečenih pneumonija (48). Drugi autori su utvrdili da je MP najčešći uzročnik pneumonija kod dece starije od pet godina, uzrokujući preko 50% svih pneumonija kod dece školskog uzrasta (47,49).

Ranija istraživanja u kojima su dijagnostika zasnivala na serološkim metodama su pokazala, da se MP pneumonija vrlo retko javlja kod dece mlađe od pet godina, kao i da je najveća učestalost kod dece starosti između pet i 15 godina (35,42,50,51). Međutim, nedavno sprovedena istraživanja su pokazala da je prevalenca pneumonije uzrokovanih MP značajna i kod dece mlađe od pet godina (52-54). Block i saradnici su u svojoj studiji izolovali MP kod 23% dece sa pneumonijom, uzrasta tri do četiri godine (52). Istraživanje sprovedeno u Francuskoj koje je obuhvatilo decu i adulte sa MP pneumonijom je pokazalo da se prevalenca obolele dece mlađe od četiri godine značajno ne razlikuje u odnosu na stariju decu i odrasle (53).

Učestalost respiratornih infekcija, pa i pneumonija uzrokovanih MP u Srbiji je nepoznata u svim uzrastnim grupama, najviše zbog činjenice da se dijagnostika ovih infekcija postavljala samo serološkim metodama.

1.6. Kliničke manifestacije respiratorne *Mycoplasma pneumoniae* infekcije

Infekcija MP može da se manifestuje simptomima od strane gornjih disajnih puteva, donjih disajnih puteva ili simptomima gornjih i donjih disajnih puteva. Bolest se razvija postepeno, tokom nekoliko dana, a može da traje od nekoliko nedelja, do nekoliko meseci. Najčešće se prvo javlja kijavica, nazalna kongestija, bol u grlu, promuklost i povišena temperatura. Kašalj je u početku neproduktivan i ukazuje na širenje infekcije na donje disajne puteve (traheju, bronhije i bronhiole). Nakon tri do četiri dana kašalj, može postati produktivan. Pored toga, mogu da se jave glavobolja, mialgija i malaksalost. U težim oblicima bolesti, može da se javi dispneja (otežano disanje) i kašalj sličan kao kod pertuzisa, koji može da dovede do nastanka bola u grudima zbog produženog trajanja (1). Pojedini autori ističu da se kliničke manifestacije razlikuju u zavisnosti od uzrasta. Kod deca mlađe od pet godina najčešće se javljaju simptomi infekcije gornjih disajni puteva i vizing, dok se u ovom uzrastu pneumonija retko javlja. Starija dece, uzrasta pet do 15 godina života češće razvijaju pneumoniju (55,56). Studije sprovedene krajem prošlog veka su pokazale da je MP uzočnik bronhiolitisa u 5% slučajeva kod mlađe dece (57,58). Za razliku od dece kod kojih je reč o primarnoj infekciji i koja najčešće imaju kliničku sliku respiratorne infekcije, kod adultnih bolesnika zbog multiplih reinfekcija MP, javljaju se blage ili asimptomatske infekcije (18). Fizikalni pregledom se najčešće verifikuje hiperemija ždrela koja može biti praćena uvećanim limfnim čvorovima vrata. Auskultacijom na plućima se mogu čuti pukoti i vizing.

Navedeni simptomi nisu specifični, te je klinička prezentacija respiratorne MP infekcije često slična kliničkoj slici drugih atipičnih bakterija (posebno *Chlamydia Pneumoniae*) i različitih respiratornih virusa. Takođe, pokazano je MP može biti prisutna u respiratornom traktu istovremeno sa drugim patogenima, kako bakterijskim tako i virsrim (41,52). Block i saradnici su opisali koinfekciju MP i bakterijom *Chlamydia Pneumoniae* u 8% slučajeva van bolnički stečenih pneumonija (52). Hersi i saradnici su kod 6% bolesnika sa MP infekcijom izolovali bakteriju *Haemophilus influenzae* (59).

U nekomplikovanim slučajevima povišena temperatura se održava tokom sedam dana, dok kašalj i malaksalost mogu da traju dve nedelje i duže. Dužina trajanja simptoma

bolesti je kraća, ukoliko je antimikrobna terapija započeta na samom početku bolesti (60). Od bolesnika sa MP pneumonijom kojima je neophodno bolničko lečenje oko 11% zahteva mehaničku ventilaciju (61). Fulminantna infekcija sa multiorganskim popuštanjem i smrtnim ishodom se kod imunokompetenih bolesnika retko opisuju (62,63).

Plućne komplikacije nakon MP infekcije su retko opisivane. U literaturi se navode intersticijska plućna fibroza, bronhiolitis obliterans i Swayer-James sindrom (2). Međutim, istraživanje u kome je deci sa MP pneumonijom posle jedne do dve godine učinjena kompjuterizovana tomografija (CT) pluća visoke rezolucije, je pokazalo da je čak 37% ispitanika imalo plućne sekvele, čija lokalizacija je odgovarala lokalizacija pneumonije na radiografiji pluća. Najčešće opisane sekvele bile su mozačina perfuzija i bronhiektazija (64). Takođe Marc i saradnici su utvrdili da je u periodu šest meseci do godinu dana nakon MP infekcije, 48% dece imalo poremećenu difuziju gasova u plućima, koja je merena difuzijom ugljen monoksida. Tokom ovog istraživanja nisu zabeležene promene u plućnim protocima i volumenima kod ispitivane dece (65).

Kod dece sa funkcionalnom asplenijom, anemijom srpastih ćelija, sindromom Dawn i različitim oblicima imunodeficijencije, infekcija MP može da dovede do nastanka fulminantne pneumonije (66,67). Tako je kod dece sa anemijom srpastih ćelija opisno da MP uzrokuje tešku pneumoniju sa multilobarnim infiltratima, respiratornim distresom i velikim pleuralnim izlivom (5,66). Takođe, deca sa hipogamaglobulinemijom imaju veliki rizik za razvoj teškog oblika bolesti i vanplućnu diseminaciju uzročnika posebno u zglobove (68,69).

1.7. Vanplućne manifestacije *Mycoplasma pneumoniae* infekcije

Podaci iz literature pokazuju da 25% bolesnika sa MP infekcijom može da razvije vanplućne manifestacije bolesti, koje mogu da zahvate sve organe i organske sisteme (1). One mogu da se jave pre, u toku ili posle respiratornih manifestacija, ali mogu da se jave i u odsustvu respiratornih simptoma, posebno kod dece (70). Dugi niz godina se smatralo da

autoimunski mehanizmi, koji nastaju zbog homologih sekvenci adhezionih proteina i glikolipida ćelijske membrane MP sa različitim humanim tkivima, kao i stvaranje imunskih kompleksa imaju najznačajnu ulogu u patogenezi vanplućnih manifestacija udruženih sa MP infekcije. Međutim, razvoj i primena molekularnih dijagnostičkih metoda, doveli su do saznanja da i drugi patofiziološki mehanizmi imaju ulogu u nastanku vanplućnih manifestacija. Metodom PCR, MP je izolovana izvan respiratornog sistema, u krvi, cerebrospinalnoj tečnosti, perikardialnoj, sinovijalnoj tečnosti i u lezijama kože, što ukazuje da diseminacija i direktna invazija ovog patogena takođe mogu imati ulogu u nastanku ovih manifestacija (71,72). Hematogeno rasejana MP u udaljenim organima dovodi do pokretanja lokalnog imunskog odgovora posredstvom mnogobrojnih solubilnih medijatora kao što su različiti interleukini, TNF- α i IFN- γ (18). Nedavno je utvrđen još jedan mogući patofiziološki mehanizam nastanka vanplućnih manifestacija koji uključuje oba prethodna opisana mehanizma. Naime, hematogena diseminacija MP može da dovede do lokalnog oštećenja vaskularnog zida krvnog suda, stimulišući produkciju citokina poput IFN- α i IL-8 koji dovode do lokalnog vaskulitisa i/ili vaskularne okluzije trombom, a bez sistemskog poremećaja koagulacije (73).

Najozbiljnije vanplućne manifestacije su neurološke, koje se javljaju u 6-7% hospitalizovanih bolesnika sa serološki dokazanom MP infekcijom (1,74,75). Encefalitis je najčešće opisana komplikacija kod dece (74), a pored toga mogu da se jave cerebelarni sindrom, poliradikulitis, paraliza kranijalnih nerava, meningitis, optički neuritis, diplopija, poremećaj stanja svesti, mentalna konfuzija i akutna psihoza kao posledica encefalitisa (1). U literaturi su prikazani i različiti motorni deficiti koji mogu da se jave udruženo sa MP infekcijom, kao što su ataksija, horioatetozna, ascedentna paraliza (Guillan-Barre sindrom) i neuropatija brahijalnog pleksusa (1). Patogeneza neurološkim manifestacijama još uvek nije u potpunosti jasna. Mnoga sprovedena istraživanja govore u prilog tome da autoimunski mehanizmi dovode do nastanka neuroloških komplikacija (76,77). Antitela prema galaktocerebrozidu komponenti mijelina, detektovana su kod 100% bolesnika sa MP infekcijom i neurološkim manifestacijama, a samo kod 25% bolesnika koji nisu imali neurološku simptomatologiju (76). Sa druge strane, izolacija MP u nervnom tkivu i

cerebrospinalnoj tečnosti, ukazuje na diseminaciju iz respiratornog trakta i direktnu invaziju patogena kao mogući mehanizam nastanka ovih komplikacija (63,78). Većina bolesnika razvije neurološku simptomatologiju jednu do dve nedelje nakon početka respiratornih simptoma. Međutim, pokazalo se da kod 20% bolesnika, razvoju ovih komplikacija nije prethodila respiratorna simptomatologija, niti su u vreme razvoja neuroloških manifestacija imali respiratorne simptome (79). Smrtnost bolesnika sa ovim komplikacijama je oko 10% (80). Najveći broj bolesnika sa neurološkim komplikacijama se u potpunosti oporavi, a oko 25% ovih bolesnika ima sekvelu u vidu motorng ili funkcionalng deficita ili ponavljanih konvulzija (75).

Kožne manifestacije su u literaturi najčešće opisane komplikacije udružene sa MP infekcijom. Javljaju se kod 25% osoba sa MP infekcijom. Najčešće se javljaju makulopapilarni eritem i vezikularni raš (81). U literati se navodi da je MP najčešći uzrok eritema kod bolesnika sa pneumonijom (80). Ređe se javljaju bolesti poput buloznog egzantema i Stevens-Johnon sindroma, kod kojih u kožnim lezijama može da se izoluje MP (82-84). Bolesnici sa Stevens-Johnon sindromom najčešće nemaju kliničke i radiografske znake pneumonije (84).

Nespecifična mialgija, artralgija i poliartropatija se javljaju kod 14% bolesnika sa akutnom MP infekcijom i ponekad mogu da traju duži vremenski period (85). Septički artritis kod koga se MP direktno izoluje u sinovijalnoj tečnosti je najčešće opisivan kod bolesnika sa hipogamaglobulinemijom, i ne mora uvek biti praćen respiratonom simptomatologijom (69). Međutim, septički artritis povremeno može da se javi i kod imunokompetetnih osoba (86,87). U poslednjih nekoliko godina sve je više prikaza bolesnika sa rabdomiolizom koja je udružena sa MP infekcijom (88,89).

Kardiološke komplikacije su opisane u 1-8,5% slučajeva kod bolesnika sa serološki dokazanom MP infekcijom. Češće se javljaju kod adultnih bolesnika (90). Najčešće se javljaju u obliku miokarditis, perikarditisa, ili perikardnog izliva. (91,92). Smatra se da direktna invazija MP dovodi do nastanka perikarditisa s obzirom da se uzročnik često može izolovati u perikardnom tkivu ili perikardnom izliva (93,94). Pokazalo se da bolesnici sa

ovakvim komplikacijama retko razviju pneumoniju (93,94). Patogeneza nastanka miokarditisa još uvek nije jasna, ali se pretpostavlja da nastaje autoimunim mehanizmom (71,90).

Kada je reč o hematološkim komplikacijama najčešće se javlja hemolizna anemija i to češće kod dece nego kod odraslih sa MP infekcijom (91,95). Uzrokovana je unakrsnim reakcijama između glikolipidnih antigena MP i antigena na površini eritrocita (91,95). Pored toga opisane su diseminovana intravaskularna koagulacija, aplastična anemija i trombocitopenijska purpura udružene sa MP infekcijom (96-98). Takođe, pokazano je da subkliničku formu hemolizne anemije i intravaskularne koagulacije ima 50% bolesnika sa MP infekcijom (1,80).

Infekcija uzrokovana MP može biti udružena sa različitim nespecifičnim gastrointestinalnim simptomima kao što su muka, povraćanje bol u stomaku, dijareja i gubitak apetita u 25% slučajeva (80).

Jedna trećina bolesnika sa MP infekcijom ima nespecifične otološke simptome poput upale spoljašnjeg ili srednjeg uha (56). Kod dece sa ovom infekcijom, opisane su i oftalmološke komplikacije u vidu konjunktivitisa, uveitisa, iritisa, optičke neuropatije i retinalnog krvarenja sa ili bez trajnog oštećenja vida (99). Akutni glomerulonefritis, tubulointersticijski nefritis, IgA nefropatija i bubrežna insuficijencija su opisane bubrežne komplikacije koje se retko javljaju (1,80). Vanplućne manifestacije udružene sa MP infekcijom mogu da zahvate i druge organe, ali se one prema navodima iz literature retko javljaju (1).

1.8. Dijagnostika pneumonije uzrokovane bakterijom *Mycoplasma pneumoniae*

U kliničkoj praksi uzročnik pneumonije kod dece se identifikuje u svega 20-60% slučajeva (100,101). Stoga se lečenje tj. izbor antibiotika bazira na utvrđivanju kliničkih, radioloških i nespecifičnih laboratorijskih nalaza (4). Međutim, kako beta-laktamski antibiotici, koji se često empirijski koriste u lečenju infekcija donjih disajnih puteva kod

dece, nisu efikasni u lečenju infekcija uzrokovanim MP, precizna etiološka (laboratorijska) dijagnoza MP pneumonije je takođe važna.

1.8.1. Radiografski nalaz

Radiografski nalaz kod MP pneumonijom može da bude različit i može ličiti na mnoge plućne bolesti. Inflamatorni odgovor uzrokovan MP infekcijom dovodi do nastanka intersticijskog mononuklearnog infiltrat u plućima, koji sa na radiografiji pluća prikazuje kao difuzan, retikularni infiltrat bronhopneumonije, lokalizovan perihilarno ili u donjim režnjevima, najčešće jednostrano uz hilarnu adenopatiju (1). John i saradnici su u istraživanju koje je obuhvatilo 42 dece sa MP pneumonijom utvrdili da je 52% dece imalo retikulonodalni infiltrat u jednom režnju, pri čemu su donji režnjevi bili češće zahvaćeni u odnosu na gornje (102). Međutim, sve je više studija koje pokazuju da se pored ovih promena, mogu javiti i druge promene poput konsolidacije, koja ne mora uvek da korelira sa kliničkom slikom (103). U 4-20% slučajeva može da se javi i pleurali izliva, koji se uglavnom javlja na strani na kojoj je plućni infiltrat (80). Takođe utvrđeno je da kod 20% bolesnika radiografske promene mogu biti obostrane (81). Lee i saradnici su u svojoj studiji koja je obuhvatila 16 bolesnika sa MP pneumonijom, naveli da deca češće razvijaju lobarnu kondolidaciju i pleuralni izliv u odnosu na adultne bolesnike (104). Reittner i saradnici su proučavajući radiografije pluća kod 28 bolesnika sa MP pneumonijom, utvrdili da je načešći radiografski nalaz bio konsolidacija, koja je bila prisutna kod 86% bolesnika. Nodularne senke su verifikovane kod 50% bolesnika, linearne senke kod 10% ispitanika, zadebljanje bronhijalnog zida kod 18%, pleuralni izliv kod 7% i limfadenopatija kod 10% bolesnika sa MP pneumonijom (105). Kada su pomenuti autori radiografije pluća ovih bolesnika uporedili sa nalazom CT pluća visoke rezolucije, zaključili su da se intersticijske promene kod MP pneumonije teško prepoznaju na radiografiji pluća, ali da se lako verifikuju na snimcima CT pluća visoke rezolucije (105).

Radiografska rezolucija kod bolesnika sa MP pneumonijom nastaje nakon kliničke rezolucije, a utvrđeno je da 20% bolesnika ima radiografske promene koje se održavaju i do četiri meseca nakon infekcije (106).

1.8.2. Laboratorijska dijagnostika

Jedna trećina bolesnika sa pneumonijom koja je uzrokovana MP ima leukocitozu (56). Pri pregled sputuma mogu da se nađu mononuklearne ćelije, neutrofilni ili normalna flora (1). Nema specifičnih biohemijskih analiza tipičnih za MP infekciju, ali neki bolesnici mogu imati biohemijske znake hemolizne anemije (1).

Jedna od prvih metoda korišćenih u dijagnostici MP pneumonija je prisustvo hladnih aglutinina u serumu bolesnika. Hladni aglutinini su zapravo IgM antitela koja se javljaju jednu do dve nedelje nakon inicijalne infekcije kod 50% bolesnika, i u krvi se održavaju nekoliko nedelja. Prema jednoj teoriji hladni aglutinini nastaju kao rezultat unakrsno reaktivnih antitela nastalih prema antigenima na eritrocitima tokom akutne MP infekcije. Prema drugoj teoriji, ova antitela nastaju direktno kao rezultat antigenskih promena na eritrocitima (1). Međutim, hladni aglutinini mogu da nastanu i kod osoba sa različitim bakterijskim infekcijama (*Klebsiella pneumoniae*, *Legionella pneumophila*), različitim vrstama riketijama ili virusnim infekcijama (virus influence, adenovirus, citomegalovirus) (1). Ova antitela mogu biti prisutna i kod autoimunskih i malignih oboljenja. Razvijem drugih dijagnostičkim metodama koje omogućavaju otkrivanje MP specifičnih antitela, ova metoda se danas sve manje koristi u kliničkoj praksi.

1.8.3. Patološki nalaz

Histopatološki pregledi dobijeni na animalnim modelima ili biopsijom pluća pokazuju destrukciju cilijarnog epitela u bronhijama i bronhiolama i ulcerozne promene. Pored toga, opisuju se edem zida bronhija i bronhiola, uz bronhijalnu i alveolarnu

infiltraciju makrofagima, limfocitima, neutrofilima i plazma ćelijama (1,107). Takođe, opisana je hiperplazija pneumocita tipa II uz difuzno alveolarno oštećenje (1). Pokazalo se da kod imunokompromitovanih osoba sa MP infekcijom, ne dolazi do stvaranja plućnog infiltrata, što takođe ukazuje na značaj imunskog odgovora domaćina u nastanku plućnih lezija (67).

1.8.4. Mikrobiološka dijagnostika

Laboratorijska dijagnostika respiratornih infekcija uzrokovanih MP je otežana zbog nedostatka standardizovanih, senzitivnih i specifičnih metoda za detekciju ovog uzročnika. Za dijagnozu MP respiratornih infekcija u kliničkoj praksi se koriste metoda kultivisanja bakterija, serološke metode, PCR metoda. Poređenje ovih metoda je u velikoj meri otežano, kako zbog nepostojanja „zlatnog standarda“ za dijagnozu MP infekcije, tako i zbog činjenice da su za procenu validnosti (senzitivnosti i specifičnosti) ovih metoda, u istraživanjima korišćeni različiti dijagnostički kriterijumi. Pored toga, svaka od ovih metoda ima specifična ograničenja.

1.8.4.1. Kultivisanje

Izolacija MP iz respiratornih sekreta i drugih kliničkih uzoraka kultivisanjem zahteva selektivne i obogaćene podloge, kao i komplikovanu metodu izolacije. Rast kulture je veoma spor i traje do šest nedelja, što ovu metodu čini neupotrebljivom u svrhu lečenja bolesnika i kliničkom radu (6). U poređenju sa molekularnim tehnikama, poput PCR, senzitivnost ove metode je svega oko 60% (54). Međutim, specifičnost ove metode je 100% kada je kultura pozitivna (1). Pored toga perzistiranje MP u disajnim putevima duži vremenski period nakon akutne infekcije, otežava procenu značajnosti rezultata kultivisanja bez dobijanja podataka nekim od seroloških testova.

Zbog svega navedenog, kultura se retko koristi u rutinskoj dijagnostici i/ili lečenju infekcija uzrokovanim MP. Ukoliko se i koristi, s obzirom na mnogobrojna ograničenja ove metode, potrebno je da se kombinuje sa drugim dijagnostičkim metodama, kao što su PCR i/ili serologija (1). Jedina prednost ove metode je da se kultivisanjem MP obezbeđuju klinički izolati za genotipizaciju i ispitivanje antimikrobne osetljivosti.

1.8.4.2. Serološke metode

Serološke metode, kojim se utvrđuje prisustvo specifičnih antitela u serumu su u svakodnevnoj kliničkoj praksi najčešće korišćene metode (108). Serologija ima dominantnu ulogu u rutinskoj dijagnostici MP infekcija, kako zbog lakog uzimanja uzoraka, tako i zbog relativne dostupnosti seroloških testova. Za adekvatno izvođenje ove metode, preporučuje se istovremeno određivanje IgM i IgG antitela u akutnom i kovalescentnom serumu koji se uzima dve do tri nedelje nakon akutnog seruma, posebno kod adultnih bolesnika. Najmanje četverostruki porast titra antitela ukazuje na akutnu infekciju, jer je pokazano da mnoge zdrave osobe mogu imati visok nivo IgG antitela zbog prethodne MP infekcije. Mnogi autori ističu da su kod pedijatrijskih bolesnika povišene vrednosti IgM antitela u serumu u akutnoj fazi bolesti pouzdan pokazatelj MP infekcije, s obzirom da se kod dece najčešće radi o primarnoj infekciji (5,109). Suprotno tome, adultni bolesnici zbog mnogobrojnih reinfekcija, često u akutnoj infekciji ne stvaraju IgM antitela, već samo IgG antitela (110). Ukoliko nastane porasta IgM antitela, povišen nivo ovih antitela može da se održava duži vremenski period (nekoliko nedelja do nekoliko meseci) (111).

Postoji veliki broj komercijalnih seroloških testova za serodijagnostiku MP infekcije koji podrazumevaju upotrebu različitih metoda, kao što su reakcija vezivanja komplementa, indirektna imunoflorencija, test imunoaglutinacije i ELISA. Najčešće korišćeni testovi za dijagnostiku MP infekcija u pedijatrijskoj populaciji su reakcija vezivanja komplementa i ELISA - enzimski imunotest.

Reakcija vezivanja komplementa se dugo koristila u dijagnostici infekcija uzrokovanih MP. Međutim, ova metoda nema dovoljnu senzitivnost i specifičnost zbog unakrsne reaktivnosti antigena koji se koristi u ovom testu sa drugim patogenima, a posebno sa *M. genitalium*. Pored toga, ova metoda ne omogućava određivanje različitih klasa antitela što stvara teškoće u razlikovanju akutne od hronične ili prethodne infekcije (1).

Indirektna imunofluorescencija predstavlja precizan i kvantitativni metod, ali subjektivna interpretacija rezultata i uticaj reumatoidnog faktora, kao i visokog nivoa IgG antitela na rezultate testa, umanjuje dijagnostičku vrednost ovog testa (1).

Test imunoaglutinacije je test koji omogućava istovremenu detekciju specifičnih antitela klase M i G uz njihovu kvantifikaciju.

Enzimski imunotest (ELISA – engl. *enzyme-linked-immunosorbent assay*) je najčešće korišćena serološka metoda koja omogućava otkrivanje specifičnih IgM i/ili IgG antitela u serumu. ELISA je osetljiv kvalitativni i kvantitativni metod, ukoliko bolesnik ima funkcionalan imunski sistem i ukoliko je prošlo dovoljno vremena od početka infekcije kako bi nastala antitela. Najčešće korišćeni antigeni u ovoj metodi su glikolipidi, prečišćeni proteini uključujući P1 adhezin i sintetski peptidi. Senzitivnost i specifičnost ovog testa varira u zavisnosti od komercijalnog kita i antigena koji se koristi. U literaturi se navodi da testovi u kojima se koristi P1 adhezin imaju veću senzitivnost i specifičnost u poređenju sa testovima koji koriste glikolipide (75). Tokom poslednje decenije razvijen je i brzi enzimski imunotest za detektovanje IgM antitela u akutnom serumu u cilju dokazivanja MP infekcije. Međutim, istraživanje sprovedeno u Japanu koje je obihvatilo decu sa MP pneumonijom je pokazalo, da senzitivnost ovog testa iznosi svega 32% kada se koristi akutni serum, dok je pri upotrebi akutnog i kovalescentnog seruma senzitivnost testa porasla na 89% (112).

S obzirom da je za precizno dokazivanje akutne MP infekcijom serološkom metodom najčešće neophodno detektovati IgM i IgG antitela u parnom serumu sa razmakom od tri nedelje, ova metoda ima veći značaj u epidemiološkim studijama u kojim

se dijagnoza potvrđuje retrospektivno, u odnosu na klinički rad gde su potrebni brzo dostupni rezultati kako bi se započelo adekvatno lečenje.

1.8.4.3. Reakcija lančane polimerizacije (PCR)

Devedesetih godina prošlog veka počinje korišćene molekularnih metoda za detekciju MP. Skakni i saradnici su prvi primenili PCR metodu za otkrivanje MP u respiratornim uzorcima kod dece (113). Tokom poslednje dve decenije, ova metoda je razvijana i usavršavana kako bi mogla rutinski da se primenjuje u dijagnostici MP infekcija. Najčešći prajmeri koji se koriste u ovom testu su P1 adhezin, 16S rRNA i ATPaza operon, tuf i CARDS toksin gen (18). Najvažnije prednosti ove metode su da omogućava brzu dijagnostiku (unutar nekoliko sati), kao i detekciju MP ne samo iz respiratornih uzoraka, već i iz krvi i cerebrospinalne tečnosti. Pored toga, da ovaj metod ima veliku specifičnost i senzitivnost (1,6). Specifičnost i senzitivnost ove metode u velikoj meri zavise od prajmera koji se koristi, ekstrakcije DNA i tehnike amplifikacije, kao i vrste uzorka u kome se detektuje MP. Međutim, ovom metodom se bez razlike detektuje MP kod akutne infekcije, kao i kod perzistiranja uzročnika nakon infekcije što značajno ograničava dijagnostičku vrednostovog testa, i može da doprinese precenjivanju prevalencije ovih infekcija (1).

Real-time PCR (RT-PCR) metoda u odnosu na klasičnu PCR metodu ima veću senzitivnost i veću brzinu izvođenja metode. U prilog tome govori i studija u kojoj je RT-PCR metoda u serumu bila pozitivna kod 15 od 29 (52%) bolesnika sa serološki dokazanom MP infekcijom u poređenju sa 0% pozitivnih nalaza tradicionalnom PCR metodom (114). Pored toga, kod ove metode manji je rizik za kontaminaciju tokom izviđenja reakcije, a samim tim i nastajanje lažno pozitivnog rezultata.

Metodom PCR, uzročnik može da se izoluje iz nazofaringealnog i orofaringealnog sekreta, sputuma, BAL i tkiva dobijenog biopsijom pluća. Michelow i saradnici su utvrdili da nazofaringealni i orofaringealni uzorci podjednako efikasni u detekciji MP PCR metodom kod dece sa pneumonijom, ali i da istovremena detekcija iz oba uzorka daje bolje

rezultate (115). Honda i saradnici su poredeći sputum, BAL i bris ždrela utvrdili, da je bris ždrela bio pozitivan u 29% slučajeva, BAL u 21%, a sputum u 14% slučajeva (116). Suprotno tome, Raty i saradnici su pokazali da je senzitivnost PCR metode kod adultnih bolesnika bila najveća kada je MP detektovana u sputumu, 69%, dok je za nazofaringelani aspirat iznosila 50%, a za bris ždrela 38% (117). Loens i saradnici su analizirajući optimalnu vrstu uzorka za otkrivanje različitih respiratornih patogena, zaključili, da je sputum ukoliko je dostupan najbolji uzorak za izolaciju MP metodom kultivisanja i PCR metodom (118). S obzirom na različite rezultate sprovedenih studija i različita mišljenja pojedinih autora, još uvek nije usaglašeno, koja vrsta respiratornog uzorka je najoptimalnija za testiranje PCR metodom (18). Poznato je da kod male dece nije moguće dobiti sputum, kao i da kod bolesnika sa MP infekcijom retko postoji potreba za invazivnim procedurama kojima se dobija uzorak iz donjih disajnih puteva. Stoga se kod pedijatrijskih bolesnika u svakodnevnom kliničkom radu preporučuju uzorci iz nazofaringsa ili ždrela za detekciju uzročnika PCR metodom (6). Lei Zhang i saradnici su u nedavno objavljenom pregledu i meta-analizi naveli da senzitivnost PCR metode ne zavisi samo od vrste uzorka, već i od vremena uzimanja uzorka. Za razliku od serologije, senzitivnost ove metode se smanjuje ukoliko se ona primenjuje nakon sedam ili više dana od početka bolesti (119).

Pojedine studije su pokazale značajno neslaganje rezultata dobijenih PCR metodom i kultivisanjem i/ili serologijom kod bolesnika sa MP infekcijom (120,121). Waris i saradnici su utvrdili da je kod dece sa serološki dokazanom MP pneumonijom, nalaz PCR bio pozitivan u svega 50% dece (109). U literaturi se navodi nekoliko objašnjenja za ovu lošu korelaciju, odnosno ne slaganje ovih metoda. Ukoliko pacijent ima pozitivan PCR i negativan rezultat kulture i nema respiratorne simptome, ovakva kombinacija ukazuje na nedovoljnu specifičnost PCR metode, perzistiranja uzročnika ili asimptomatsku infekciju. Pozitivan PCR kod pacijenta sa negativnim serološkim testovima ukazuje na neadekvatan imunskih odgovor, ranu i uspešnu antibiotsku terapiju ili rano uzimanje uzorka krvi pre sinteze specifičnih antitela. Negativan PCR kod bolesnika sa kulturom ili serologijom dokazanom infekcijom, ukazuje na prisustvo inhibitora ili na neki drugi tehnički problem sa PCR metodom. Takođe, ukoliko je kod bolesnika započeta primena antibiotika, PCR može

biti negativan, a serologija pozitivna (2). Reznikov i saradnici su utvrdili češće prisustvo inhibitora u nazofaringelanom aspiratu u poređenju sa brisom ždrela, te su shodno dobijenim rezultatima preporučili uzimanje brisa ždrela u cilji dijagnostike MP infekcija (122). Dorigo-Zetsma i saradnici su analizirajući 18 bolesnika sa serološki dokazanom MP infekcijom, pokazali da je sputum vrsta uzorka koja je najčešće bila pozitivna, u 62% bolesnika, dok je nazofaringelani aspirat bio pozitivan kod 41%, a bris ždrela kod 28% bolesnika (123). Inhibitori amplifikacije su najčešće jedinjenja hema, polisaharidi iz sputuma, različiti reagensi i mukolitički agensi koji se dodaju sputumu (121).

I pored napretka u razvoju i mnogobrojnih prednosti PCR metode, mnogi autori navode da ovaj test samostalno nije dovoljan za dijagnostiku respiratorne MP infekcije (108). Međutim, molekularne metode imaju veliki dijagnostički značaj kod sumnje na vanplućne manifestacije bolesti.

1.9. Terapija

Zbog nedostatka ćelijskog zida *Mycoplasma pneumoniae* je otporna na antibiotike koji sprečavaju njegovu sintezu kao što su beta-laktamski antibiotici i glikopeptidi. Sulfonamidi, polimiksini, trimetoprim, nalidiksinska kiselina i rifampicin takođe nisu efikasni u lečenju MP infekcija. Suprotno tome, ova bakterija je osetljiva na makrolidne antibiotike, fluorohinolone i tetraciklinske antibiotike (1).

Kliničke studije sprovedene još šezdesetih godina prošlog veka su pokazale da antibiotička terapija kod dece sa MP pneumonijom smanjuje dužinu trajanja bolesti (60). Međutim, nedavno su autori Cochranove studije zaključili da još uvek nema dovoljno dokaza o efikasnosti antibiotika u lečenju infekcija donjih disajnih puteva uzrokovanih MP kod dece (124). Lek izbora za lečenje MP pneumonije kod dece su makrolidni antibiotici. Fluorohinoloni se ne preporučuju u lečenju dece zbog štetnih efekata na razvoj hrskavice. Slično tome, tetraciklini nisu odobreni za upotrebu kod dece mlađe od osam godina.

Dugi niz godina se u lečenju bolesnika sa respiratornom MP infekcijom, kako u pedijatrijskoj tako i u adultnoj populaciji koristio eritromicin. Međutim, istraživanja sprovedene krajem prošlog veka su pokazale da su i novi makrolidni antibiotici kao što su azitromicina i klaritromicina efikasni u lečenju bolesnika sa MP infekcijama. Vremenom ovi lekovi su zamenili starije lekovi usled bolje podnošljivosti, manjeg broja dnevnih doza i kraćeg lečenja (125). Prema aktuelnim preporukama za lečenje respiratorne MP infekcije kod dece, preporučuju se azitromicin u dnevnoj dozi od 10 mg/kg prvog dana lečenja, a potom 5 mg/kg drugog do petog dana ili klaritromicin 15 mg/kg podeljeno u dve doze, deset dana, ili eritromicin 20-50 mg/kg podeljeno u četiri doze, 14 dana (5).

Rezistencija MP na makrolidne antibiotike je prvi put opisana pre tri decenije. Opisivani su sporadični slučajevi, a rezistencija je najčešće bila udružena sa prethodnom upotrebom makrolida. Međutim, istraživanja iz Azije, Severne Amerike i Evrope u poslednjih desetak godina su pokazala porast učestalosti rezistencije MP na makrolide (126-129). Ova rezistencija je uzrokovana tačkastom mutacijom u domenu V 23S r RNK (130). Najnovija istraživanja sprovedena na pedijatrijskim bolesnicima u poslednjih pet godina pokazuju da je u Japanu 46-93% izolata rezistentno na makrolide, 69-97% u Kini, 61% u Severnoj Koreji, 30% u Izraelu, 10% u Francuskoj i 8% u Americi (130). Iako se većina studija koje ukazuju na makrolidnu rezistenciju MP odnosi na pedijatrijsku populaciju, pojedina istraživanja ukazuju i na prisutnost ovog problema u adultnoj populaciji (18). Manja učestalost makrolidne rezistencije MP kod odraslih može da se objasni češćom upotrebom flurohinolona i tetraciklinskih antibiotika u lečenju MP infekcija u poređenju sa decom (18).

Podaci iz literature ukazuju da makrolidna rezistencija MP ima kliničkog značaja. Suzuki i saradnici su pokazali da su bolesnici sa na makrolide rezistentnom MP, koji su lečeni makrolidima imali produženu febrilnost u poređenju sa bolesnicima sa izolatima osetljivim na makrolide, ali da nisu zabeleženi teški slučajevi infekcije (127). Morozumi i saradnici su prikazali da je kod dece sa makrolid rezistentnom MP, bilo neophodno zameniti antibiotik zbog perzistiranja povišene temperature, kašlja i pogoršanja nalaza na radiografiji pluća (131).

U slučaju infekcije MP rezistentnom na makrolide, terapijske mogućnosti kod dece su ograničene. Preporučuje se primena flurohinolona i tetraciklinskih antibiotika, iako se ovi antibiotici u drugim okolnostima za lečenje dece ne preporučuju. Još uvek nema podataka o rezistenciji MP na ove antibiotike. Levofloksacin ima baktericidni efekat na MP, a samim tim i prednost u odnosu na minociklin ili druge tetraciklinske antibiotike. Preporučena dnevna doza levofloksacina za decu stariju od pet godina je 10mg/kg, dok se kod dece uzrasta šest meseci do pet godina preporučuje doza od 10mg/kg na svakih 12 sati (18,132). Preporučena doza minociklina za decu stariju od devet godina je 4 mg/kg inicijalno, a potom 2mg/kg svakih 12 sati. (18).

U pojedinim prikazima slučajeva navodi se da visoke doze kortikosteroida mogu biti efikasne u lečenju neuroloških simptoma kod bolesnika sa MP infekcijom (133). Drugi autori preporučuju uporebu kortikosteroida u kombinaciji sa antibioticima koji prolaze hematoencefalnu barijeru, kao što su doksiciklin ili hloramfenikol (134). Takođe, pokazalo se da su azitromicin i klaritromicin koji se uobičajeno koriste u lečenju MP infekcija, efikasni u lečenju MP infekcija centralnog nervnog sistema, iako makrolidi slabo penetriraju u centralni nervni sistem (133, 135). Ukoliko kortikostereodi nisu efikasni u lečenju akutnog encefalitisa, preporučuju se plazmafereza ili intavenska primena imunoglobulina (135). Suprotno mišljenju većine autora da su kortikosteriodi efikasni u lečenju neuroloških komplikacija udruženih sa MP infekcijom, uloga kortikosterioda u lečenju dermatoloških komplikacija, a posebno Stevens-Johnson sindroma još uvek nije definisana (136).

2. CILJEVI RADA

Planom istraživanja predviđeni su sledeći ciljevi:

1. Odrediti proporciju pneumonije uzrokovane MP kod dece uzrasta do 15 godina.
2. Opisati kliničke, laboratorijske i radiografske karakteristike dece sa MP pneumonijom i uporediti sa istim karakteristikama dece sa pneumonijom uzrokovanom drugim mikroorganizmima. Pored toga, utvrditi udruženost kliničkih, laboratorijskih i radiografskih karakteristika sa MP pneumonijom.
3. Opisati klinički tok bolesti kod dece sa MP pneumonijom, pojava, vrsta i učestalost komplikacija bolesti.
4. Odrediti nivo IL-4 u krvi dece sa MP pneumonijom i uporediti vrednosti IL-4 kod dece sa MP pneumonijom i kod dece koja imaju pneumoniju uzrokovanu drugim mikroorganizmima
5. Kod dece sa MP pneumonijom analizirati vrednosti IL-4 u krvi u odnosu na prisustvo vizinga.
6. Odrediti nivo IL-10 u krvi dece sa MP pneumonijom i uporediti vrednosti IL-10 kod dece sa pneumonijom koja imaju MP infekciju i kod dece koja nemaju MP infekciju.
7. Kod dece sa MP pneumonijom analizirati vrednosti IL-10 u krvi u odnosu na prisustvo vizinga.
8. Utvrditi senzitivnosti i specifičnosti serološke metode, real-time PCR metode i metode kultivisanja bakterija u dijagnostici pneumonije uzrokovane MP.

3. MATERIJAL I METODI

Istraživanje predviđeno temom ovog rada obavljeno je u periodu od 1.4.2012. do 1.3.1014. godine u:

- Univerzitetnoj Dečjoj Klinici u Beogradu
- Institutu za mikrobiologiju i imunologiju Medicinskog fakulteta u Beogradu

3.1. Bolesnici

U ovu studiju je uključeno 166 dece uzrasta do 15 godina sa van bolnički stečenom pneumonijom, koja su pregledana u pedijatrijskoj ambulanti Univerzitetne Dečje klinike u Beogradu, u periodu od 1.4.2012. do 1.3.1014. godine. Dijagnoza pneumonije je ustanovljena na osnovu kliničkih kriterijuma Svetske zdravstvene organizacije (137) i radiografski dokazane infiltracije plućnog parenhima. Deca sa pneumonijom kod kojih je prethodno započeta terapija makrolidnim antibioticima bili su isključeni iz ove studije.

Deci je na početku ovog istraživanja uzimana detaljna anamneza i učinjen detaljan fizikaln pregled. Povišena temperatura je definisana kao aksilarno izmerena temperatura veća ili jednaka 38⁰C. Svoj deci je učinjena radiografija pluća, koja je opisana od strane pedijatrijskog radiologa. Radiografske promene su klasifikovane u šest kategorija, intersticijski infiltrat, trakasta zasenčenja, mrljasta zasenčenja, segmentna ili lobarna konsolidacija, retikulo-nodalni infiltrat i pleuralni izliv (138).

Pored toga, svoj deci je na početku istraživanja uzet uzorak krvi za laboratorijske analize, i to krvnu sliku sa leukocitarnom formulom, C reaktivni protein (CRP), sedimentaciju eritrocita (SE), glikemiju, ukupni bilirubin, ureju, kreatinin, transaminaze i laktat dehidrogenazu. Za određivanje krvne slike sa leukocitarnom formulom korišćen je hematološkog analizatora MEK-6510 (Nihon Konden, Tokyo, Japan). Za ostale laboratorijske korišćen je aparat Dimension RxLMax (Siemens, Munich, Germany). Za

određivanje CRP korišćena je metoda turbidimetrije. Sve laboratorijske analize su upoređene sa vrednostima iz literature za dati uzrast bolesnika (139,140).

Iz istog uzorka krvi, vršeno je serološko testiranje i određivanje vrednosti IL-4 i IL-10. Dve do četiri nedelje nakon prvog uzorka krvi, svoj deci je na kontrolnom pregledu, uziman i drugi, kovalescentni uzorak krvi za serološko testiranje. Svoj deci su na početku istraživanja uzimana po dva brisa ždrela, i to sa zadnjeg zida orofaringsa. Iz uzorka jednog brisa, MP je dokazivana metodom kultivisanja, a u uzorku drugog brisa RT-PCR metodom.

Sva deca su potom praćeni, kako bi se utvrdila potreba za hospitalizacijom, dužina trajanja simptoma, klinički tok bolesti, pojava i vrsta komplikacija bolesti.

3.2. Mikrobiološka dijagnostika

3.2.1. Izolacija i identifikacija bakterije *Mycoplasma pneumoniae*

Prisustvo bakterije *Mycoplasma pneumoniae* u brisevima ždrela ispitivanih osoba utvrđivano je izolacijom na selektivnim podlogama, a identifikacija ispitivanjem fiziološko-biohemijskih osobina.

3.2.1.1. Izolacija bakterije *Mycoplasma pneumoniae*

Za izolaciju i kultivisanje bakterije *Mycoplasma pneumoniae* korišćen je Mycoplasma agar (M266)/bujon baza (M268) (PPLO agar/bujon baza) sa dodatkom za obogaćenje (HiMedia, HiMedia Laboratories, Mumbai, India).

Sastav podloga:

	M266	M268
	g/l	g/l
Lizat goveđeg srca	250,00	250,00
Pepton	10,00	10,00
Natrijum hlorid	5,00	5,00
Kristal violet	-	0,01
Agar	15,00	-
Finalni pH (na 25°C)		7,8± 0,2

Suspendovano je 36,00 g dehidrirane podloge M266 odnosno 21,00 g M268 u 700 ml destilovane vode. Za M266 dodavano je i 1,75g anhidrovane glukoze (HiMedia). Zagrevano je do ključanja da bi se prah u potpunosti rastvorio. Sterilisano je autoklaviranjem na temperaturi 121°C tokom 15 minuta. Podloge su hladjene na 45 °C i aseptički je dodavano 300 ml konjskog seruma (PAA Laboratories GmbH, Hilden, Germany) i 10 bočica Mycoplasma dodatka za obogaćenje (FD075) (HiMedia). Za M268 dodavano je i 2,85 ml 1% rastvora kalijum telurita (FD052) (HiMedia).

Zasejane podloge su inkubirane na 37°C u aerobnim (tečne podloge), odnosno mikroaerofilnim uslovima (čvrste podloge).

3.2.1.2. Identifikacija bakterije *Mycoplasma pneumoniae*

Izolati su identifikovani kao pripadnici vrste *Mycoplasma pneumoniae* na osnovu morfoloških osobina uočenih na preparatima obojenim po Dienes-u, kulturelnih osobina i biohemijskih osobina (sposobnost razgradnje glukoze).

Tečne podloge su se proveravale dnevno tokom 21 dana a prisustvo *Mycoplasma pneumoniae* je menjalo boju tečne podloge u žuto zbog produkcije kiseline nastale razgradnjom glukoze a u prisustvu indikatora kristal violeta.

Kultura na čvrstoj podlozi nakon 21 dana inkubacije je analizirana makroskopski i mikroskopski. Kolonije *Mycoplasma pneumoniae* imaju karakterističan homogeni granularan izgled koji je detaljnije utvrđivan i na preparatima pravljenim od delova agara sa opisanim kolonijama koje su bojene bojenjem po Dienesu .

3.2.2. Real-time PCR metoda

3.2.2.1. Izolovanje bakterijske DNK

Za izolovanje bakterijske DNK iz uzoraka briseva ždrele korišćen je komercijalni kit QIAmp DNA Mini Kit (QIAGEN GmbH, Hilden, Nemačka).

Reagensi neophodni za izolovanje su pripremljeni prema uputstvu proizvođača i do upotrebe čuvani na propisanim temperaturama (QIAGEN proteaza i puferi). Procedura izolovanja je podrazumevala sledeće korake:

- Mešanje uzorka (200 µl) sa QIAGEN proteazom (sadrži proteinazu K) i AL puferom i inkubiranje dobijene smeše na 56⁰C u toku 30 minuta u cilju lize ćelijskih membrana i denaturacije proteina kako bi došlo do oslobađanja DNK.
- Mešanje prethodno liziranog uzorka sa 96% etanolom i centrifugiranje u tubici koja sadrži QIAamp mini kolonu u cilju precipitacije i vezivanja DNK za solicijumsku membranu kolone
- Dva koraka ispiranja DNK vezane za kolonu centrifugiranjem sa različitim puferima za ispiranje (AW1 i AW2) koji obezbeđuju dodatno prečišćavanje DNK i odstranjuju sve zaostale kontaminante

- Inkubacija DNK vezane za kolonu 1 minut sa puferom za eluciju (AE) a zatim elucija centrifugiranjem pri čemu se dobijeni filtrat kroz kolonu koristi za dalju obradu.

Količina korišćenog AE pufera je modifikovana na 30 µl (sa uputstvom predviđenih 150 µl) u cilju dobijanja koncentrovanog uzorka.

Dobijena izolovana DNK je korišćena za real-time PCR.

3.2.2.2. Real-time PCR za određivanje genoma bakterije *Mycoplasma pneumoniae*

U svakom od uzoraka, real-time PCR metodom određivano je prisustvo genoma bakterije *Mycoplasma pneumoniae*. Za amplifikaciju bakterijske DNK su korišćeni TaqMan Universal PCR Master Mix (Applied Biosystems, Foster City, USA), komercijalna interna kontrola (IC) - TaqMan exogenous internal positive control (VIC boja) (Applied Biosystems, Foster City, USA), prajmeri i MGB proba (Applied Biosystems, Foster City, USA). MGB (engl. minor groove binder) proba sadrži FAM reporter boju na 5'-kraju i nefluorescirajući kvenčer MGB na 3'-kraju.

Primer 1: 5'CAAGCCAAACACGAGCTCCGGCC-3'

Primer2: 5'CCAGTGTCAGCTGTTTGTCTTCCCC-3'

Proba: 5'-TTGTCGCGCACTAAGGCCACG-3'

PCR smešu su činili: 2 X TaqMan Universal PCR Master Mix, 0,9 µM svakog od prajmera, 0,25 µM MGB probe, , 0.5 µl of IC DNA, 2,5 µl izolovane DNK iz uzorka i voda (Eppendorf, Hamburg, Nemačka) do ukupne zapremine od 25 µl.

Umnožavanje je vršeno u aparatu Applied Biosystems 7500 Real-time PCR System (Applied Biosystems, Foster City, USA) po sledećem protokolu: 50°C – 2 min, 95°C – 10 minuta, i 45 ciklusa – 95°C - 15', 60°C – 1 minut.

3.2.3. Serološka dijagnostika

3.2.3.1. ELISA test za detekciju specifičnih antitela klase M

Za ELISA test (ELISA Euroimmun, Lübeck, Germany) se koriste mikrotitracione ploče obložene specifičnim *Mycoplasma pneumoniae* antigenom. U ploče se dodaje serum pacijenta i svako antitelo specifično za vezani antigen će se vezati za njega. Nakon uklanjanja nevezanog materijala, dodaju se anti-humana IgM antitela u konjugatu sa enzimom (peroksidaza) koji može da se veže za imunski kompleks (antigen-antitelo). Nakon uklanjanja viška konjugata ispiranjem, dodaje se odgovarajući supstrat (TMB/H₂O₂), sa kojim konjugovani enzim reaguje, i produkuje obojene derivate supstrata. Intenzitet boje je proporcionalan nivou specifičnih antitela u uzorku pacijenta i može se izmeriti fotometrijski (450 nm).

Granične vrednosti za IgM:

pozitivno > 1,1

granično 0,8 -1,1

negativno < 0,8

3.2.3.2. ELISA test za detekciju specifičnih antitela klase G

Za ELISA test (ELISA Euroimmun, Lübeck, Germany) se koriste mikrotitracione ploče obložene specifičnim *Mycoplasma pneumoniae* antigenom. U ploče se dodaje serum pacijenta i svako antitelo specifično za vezani antigen će se vezati za njega. Nakon uklanjanja nevezanog materijala, dodaju se anti-humana IgG antitela u konjugatu sa enzimom (peroksidaza) koji može da se veže za imunski kompleks (antigen-antitelo). Nakon uklanjanja viška konjugata ispiranjem, dodaje se odgovarajući supstrat (TMB/H₂O₂), sa kojim konjugovani enzim reaguje, i produkuje obojene derivate supstrata.

Intenzitet boje je proporcionalan nivou specifičnih antitela u uzorku pacijenta i može se izmeriti fotometrijski (ekstinkcija se očitava na 450 nm).

Granične vrednosti za IgG:

pozitivno > 22 RU/mL

granično 16-22 RU/mL

negativno < 16 RU/mL

3.2.4. Definicija akutne infekcije uzrokovane bakterijom *Mycoplasma pneumoniae*

Dijagnoza MP infekcije je definisana ukoliko je bolesnik imao pozitivan bar jedan metod, ukoliko je MP identifikovana RT-PCR, ili kulturom, ili ukoliko su detektovana MP-specifična antitela serologijom.

3.3. Odredjivanje vrednosti serumskih citokina

3.3.1. Odredjivanje vrednosti IL-4

Odredjivanje serumske vrednosti IL-4 vršeno je ELISA testom (R&D Systems, Minneapolis, USA) po uputstvu proizvođača. Korišćenim testom je moguće detektovati koncentraciju IL-4 od 10 pg/mL.

3.3.2. Odredjivanje vrednosti IL-10

Odredjivanje serumske vrednosti IL-10 vršeno je ELISA testom (R&D Systems, USA) po uputstvu proizvođača. Korišćenim testom je moguće detektovati koncentraciju IL-10 od 3,9 pg/mL.

3.4. Statistička analiza

Statistička analiza dobijenih rezultata je sprovedena uz pomoć statističkog paketa SPSS, verzija 20.0 za *Windows*. Numerička obeležja posmatranja su predstavljena kao opseg minimalna – maksimalna vrednost (srednja vrednost \pm standardna devijacija). Za deskriptivnu analizu atributivnih obeležja posmatranja, izračunate su apsolutne i relativne učestalosti. Međugrupno poređenje parametarskih obeležja je sprovedeno pomoću Studentovog t testom ili Mann-Whitny U testa u zavisnosti od homogenosti grupa. Međugrupno poređenje atributivnih obeležja je sprovedeno Fišerovim testom tačne verovatnoće ili hi-kvadrat testom u zavisnosti od broja jedinica posmatranja. Varijable koje su se u međugrupnom poređenju značajno češće javljale analizirane su logističkom regresijom. Povezanost između posmatranih varijabli je procenjena Spirmanovim koeficijentom korelacije ranga i Pearsonovim koeficijentom korelacije. Određivanje validnosti korišćenjih dijagnostičkih metoda vršeno je izračunavanjem senzitivnosti, specifičnosti, pozitivne i negativne prediktivne vrednosti testa i ROC krive (receiver operating characteristic). Vrednosti $p < 0,05$ su smatrane statistički značajnim, a vrednosti $p < 0,01$ su smatrane visoko statistički značajnim.

4. REZULTATI

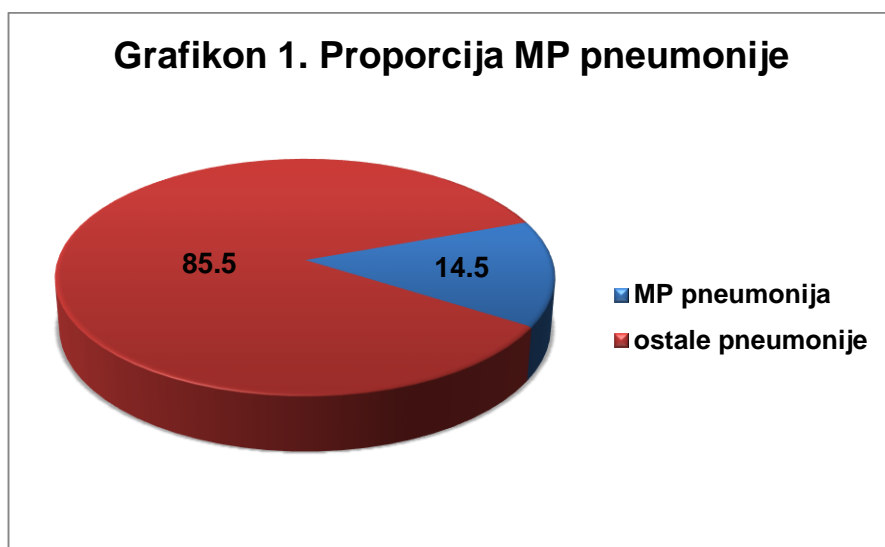
4.1. Demografski podaci svih ispitanika

U ovu studiju, ukupno je uključeno 166 dece sa pneumonijom, od čega je 86 (51,8%) bilo muškog i 80 (48,2%) ženskog pola, ali ova razlika u distribuciji analizirane dece prema polu nije bila statistički značajna ($p=0,641$; $p>0,05$).

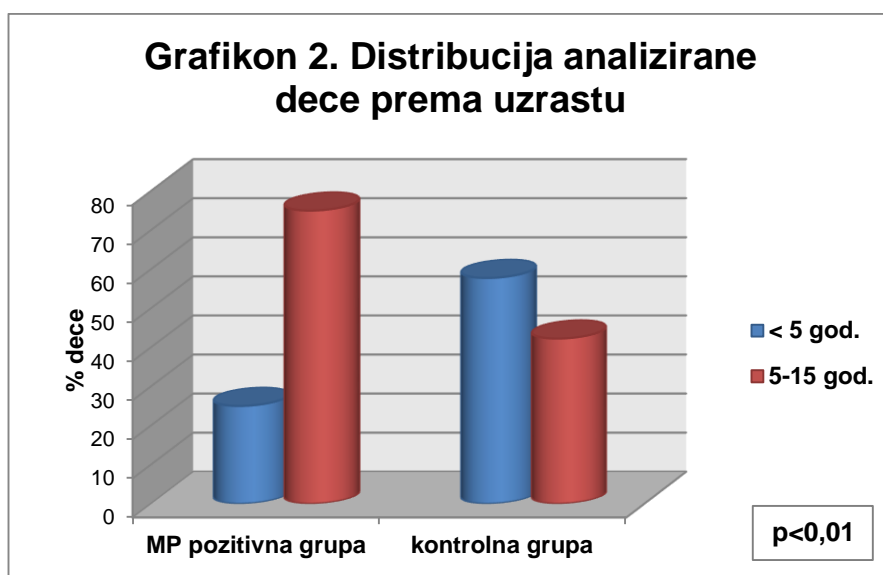
Deca uključena u studiju su bila prosečnog uzrasta od $76,24\pm 54,31$ meseci ($6,35\pm 4,52$ godina) sa varijacijama u opsegu od 10-180 meseci. Osamdeset i osmoro (53,0%) dece je bilo mlađe od pet godina, dok je 78 (47,0%) dece bilo uzrasta od pet do 15 godina, ali navedene razlike nisu bile statistički značajne ($p=0,438$; $p>0,05$).

4.2. Pneumonija uzrokovana bakterijom *Mycoplasma pneumoniae*

Od 166 dece sa pneumonijom koja su uključena u studiju, *Mycoplasma pneumoniae* je bila uzročnik pneumonije kod 24 (14,5%) dece koja su sačinjavala MP pozitivnu grupu. Preostalih 142 (85,5%) dece sa pneumonijom uzrokovanom drugim mikroorganizmima je činilo kontrolnu grupu (Grafikon 1).

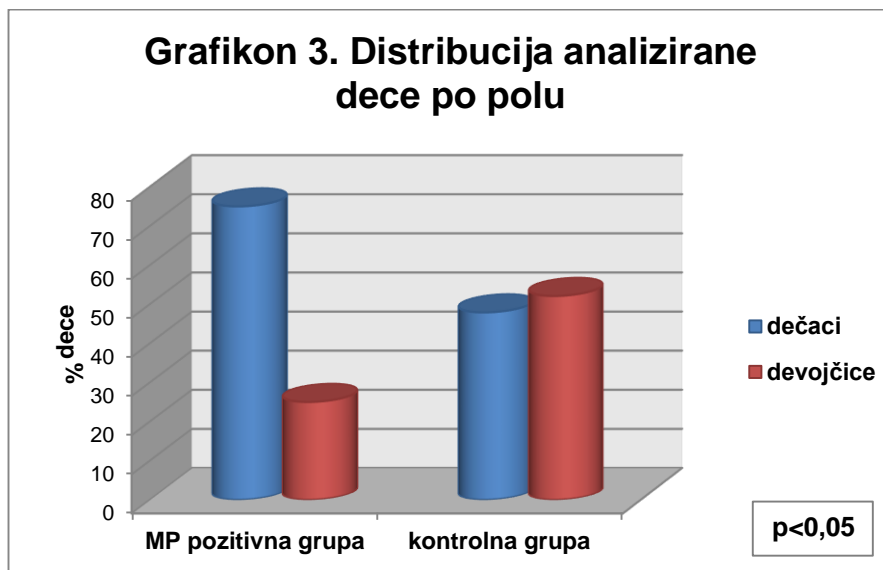


U MP pozitivnoj grupi koju je činilo 24 dece, njih 6 (25%) je bilo mlađe od pet godina, dok je 18 (75%) dece bilo uzrasta od pet do 15 godina. U kontrolnoj grupi, 82 (57,75%) dece bilo je mlađe od pet godina, a 69 (42,25%) dece pripadalo je starijoj uzrastnoj grupi. Razlika u distribuciji dece prema uzrastu bila je visoko statistički značajna ($p=0,003$; $p<0,01$) (Grafikon 2). Učestalost MP pneumonije je bila visoko statistički značajno veća kod dece uzrasta 5 do 15 godina, u odnosu na decu uzrasta do pet godina.

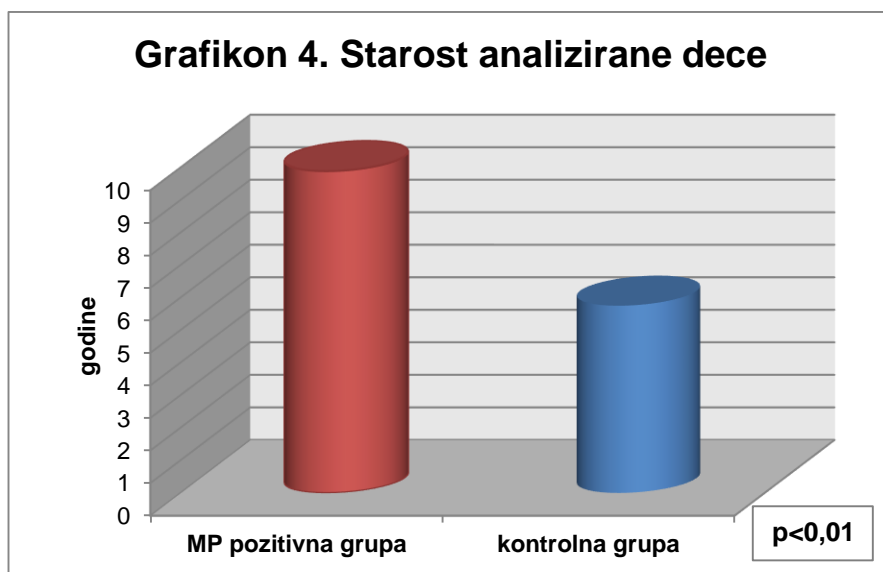


4.3. Demografski podaci

Od 24 dece MP pozitivne grupe, njih 18 (75%) je bilo muškog i 6 (25%) ženskog pola, dok se u kontrolnoj grupi nalazilo 68 (47,89%) dečaka i 74 (52,11%) devojčice, pri čemu je ova razlika u distribuciji analizirane dece prema polu bila statistički značajna ($p=0,014$; $p<0,05$) (Grafikon 3). U MP pozitivnoj grupi učestalost dečaka je bila značajno veća u odnosu na devojčice.



Starost dece MP pozitivne grupe se, u trenutku uključenja u studiju, kretala od 16-179 meseci, sa prosečnom vrednošću od $118,67 \pm 52,48$ meseci ($9,89 \pm 5,21$ godina), dok su deca kontrolne grupe bila prosečnog uzrasta od $69,07 \pm 49,56$ meseci ($5,75 \pm 4,13$ godina), sa varijacijama u opsegu od 10-180 meseci, pri čemu su navedene razlike bile visoko statistički značajna ($p=0,001$; $p<0,01$) (Grafikon 4). Deca MP pozitivne grupe bila su visoko statistički značajno starija u odnosu na decu kontrolne grupe.



4.4. Kliničke karakteristike bolesti i anamnestički podaci

Kod sve dece uključene u studiju analizirali smo prisustvo različitih simptoma pre uklanjanja u studiju, antibiotsku terapiju pre uklanjanja u studiju, dobijene podatke iz lične i porodične anamneze i fizikalni nalaz na uklanjanju u studiju.

4.4.1. Klinička prezentacija

Prvo smo kod dece MP pozitivne i kontrolne grupe analizirali učestalost i trajanje različitih simptoma pre uklanjanja u studiju.

4.4.1.1. Trajanje bolesti pre uklanjanja u studiju

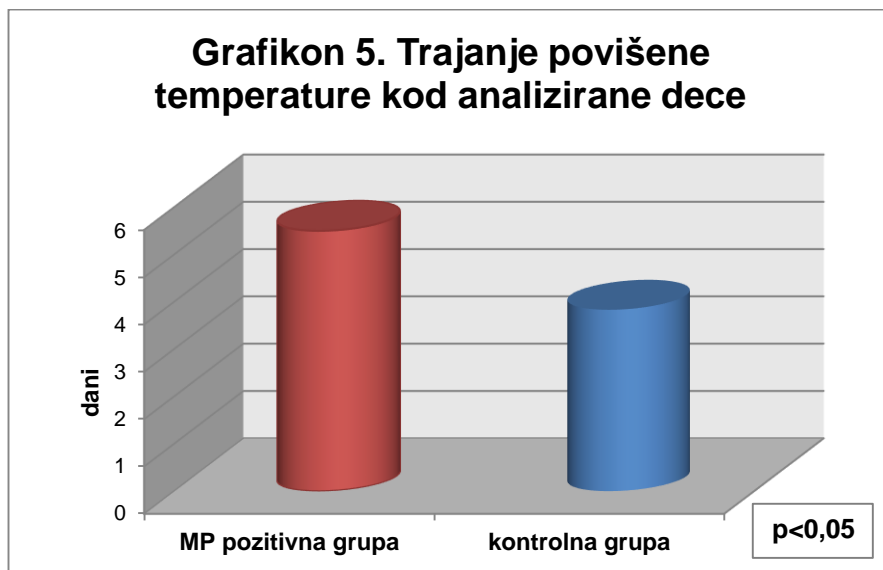
Kod dece MP pozitivne grupe, simptomi su prosečno trajali $7,33 \pm 4,89$ dana pre uklanjanja u studiju, sa varijacijama u opsegu od 2 do 20 dana. Kod dece kontrolne grupe, trajanje simptoma pre uklanjanja u studiju se kretalo od 1-20 dana sa prosečnom vrednošću od $5,75 \pm 3,78$, ali navedene razlike nisu dostigle statističku značajnost ($p=0,089$; $p>0,05$).

4.4.1.2. Povišena temperatura

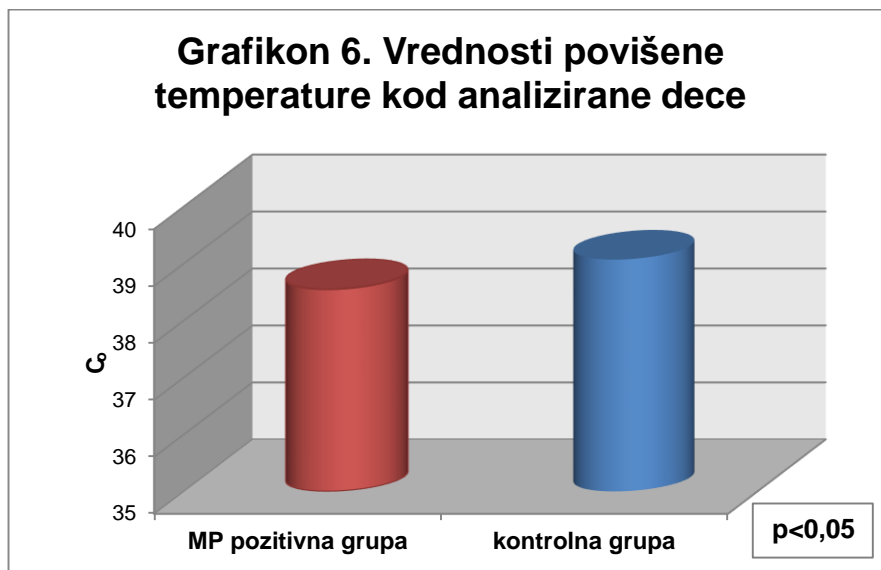
Povišenu temperaturu je, prema anamnestičkim podacima, pre uklanjanja u studiju imalo 20 (83,3%) dece u MP pozitivnoj grupi, dok 4 (16,7%) dece iz pomenute grupe nije imalo povišenu temperaturu. Slični rezultati su dobijeni analizom podataka kod kontrolne grupe, gde je 132 (93,0%) dece imalo povišenu temperaturu, a 10 (7,0%) dece nije. Razlika u učestalosti povišene temperature kod dece MP pozitivne i kontrolne grupe nije bila statistički značajna ($p=0,117$; $p>0,05$).

Kod dece MP pozitivne grupe, povišena temperatura je pre uklanjanja u studiju trajala od 0-11 dana, sa prosečnom vrednošću od $5,50 \pm 3,65$ dana, dok je kod dece

kontrolne grupe povišena temperatura prosečno trajala $3,83 \pm 2,93$, sa varijacijama u opsegu od 0 do 14 dana. Zabeležene razlike u dužini trajanja povišene temperature kod dece MP pozitivne i kontrolne grupe bile su statistički značajne ($p=0,021$; $p<0,05$). Kod dece MP pozitivne grupe povišena temperatura pre uključenja u studiju trajala je statistički značajno duže u odnosu na decu kontrolne grupe (Grafikon 5).



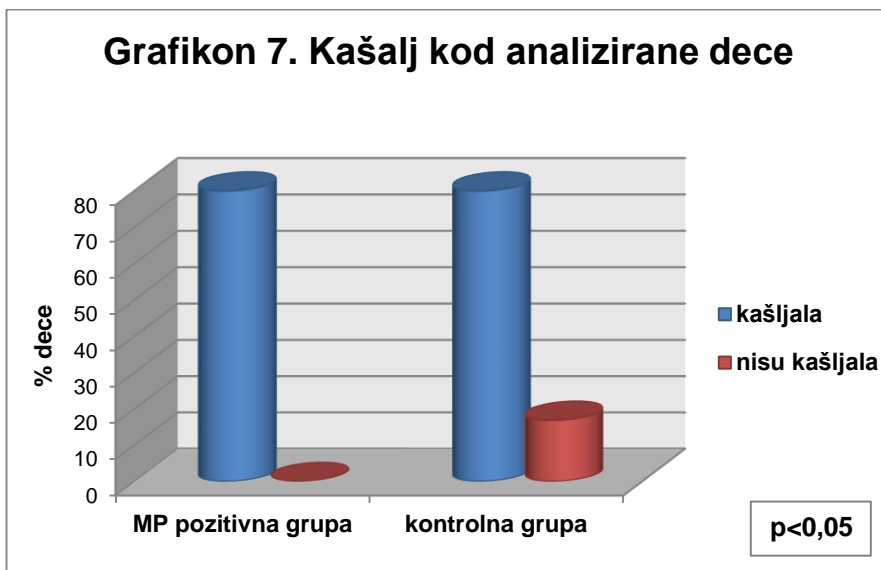
Najviša temperatura prema podacima dobijenim od roditelja je, kod dece MP pozitivne grupe prosečno iznosila $38,55 \pm 1,16$ °C, sa varijacijama u opsegu od 38-40,4°C, dok se najviša temperatura kod dece kontrolne grupe kretala od 38-40,5°C, sa prosečnom vrednošću od $39,07 \pm 0,95$ °C, pri čemu je ova razlika bila statistički značajna ($p=0,017$; $p<0,05$). Deca MP pozitivne grupe imala su značajno nižu temperaturu u poređenju sa decom kontrolne grupe (Grafikon 6).



4.4.1.3. Kašalj

Prema dobijenim anamnestičkim podacima, svih 24 (100%) dece u MP pozitivnoj grupi je kašljalo pre uključenja u studiju. U kontrolnoj grupi, 118 (83,1%) dece je kašljalo, a 24 (16,9%) dece nije imalo ovaj simptom. Ova razlika u učestalosti kašlja kod dece MP pozitivne grupe i kontrolne grupe je bila statistički značajna ($p=0,029$; $p < 0,05$) (Grafikon 7). Učestalost kašlja je bila značajno veća kod dece MP pozitivne grupe u poređenju sa decom kontrolne grupe.

Grafikon 7. Kašalj kod analizirane dece



Kod dece MP pozitivne grupe, kašalj je prosečno trajao $7,17 \pm 4,89$ dana pre uključenja u studiju, sa varijacijama u opsegu od 2 do 20 dana. Kod dece kontrolne grupe trajanje kašlja pre uključenja u studiju se kretalo od 0-20 dana, sa prosečnom vrednošću od $5,01 \pm 4,25$. Neveden rezlike u dužini trajanja kašlja kod dece MP pozitivne i kontrolne grupe bile su statistički značajne ($p=0,026$; $p < 0,05$) (Grafikon 8). Kod dece MP pozitivne grupe kašalj je pre uključenja u studiju trajao značajno duže u odnosu na decu kontrolne grupe.

Grafikon 8. Trajanje kašlja kod analizirane dece



Svih 24 (100%) dece u MP pozitivnoj grupi kašljali su suvo. Slični rezultati dobijeni su i analizom podataka kontrole grupe, kod koje je od 118 dece koja su kašljala, 108 (91,5%) dece kašljalo suvo, a samo 10 (8,5%) dece produktivno. Razlika u karakteru kašlja kod dece navedenih grupa nije bila statistički značajna ($p=0,139$; $p>0,05$).

4.4.1.4. Simptomi infekcije gornjih disajnih puteva

Prema anamnestičkim podacim, kod 4 (16,7%) dece MP pozitivne grupe bili su prisutni simptomi infekcije gornjih disajnih puteva (curenje nosa), dok kod 20 (83,3%) dece nisu zabeleženi ovi simptomi. Trideset i šestoro (25,3%) dece kontrolne grupe imalo je simptome infekcije gornjih disajnih puteva, a 106 (74,7%) dece nije imalo nevedene simptome. Zabeležena razlika u učestalosti simptoma infekcije gornjih disajnih puteva kod dece MP pozitivne i kontrolne grupe nije bila statistički značajna ($p=0,357$; $p>0,05$).

4.4.1.5. Otežano disanje

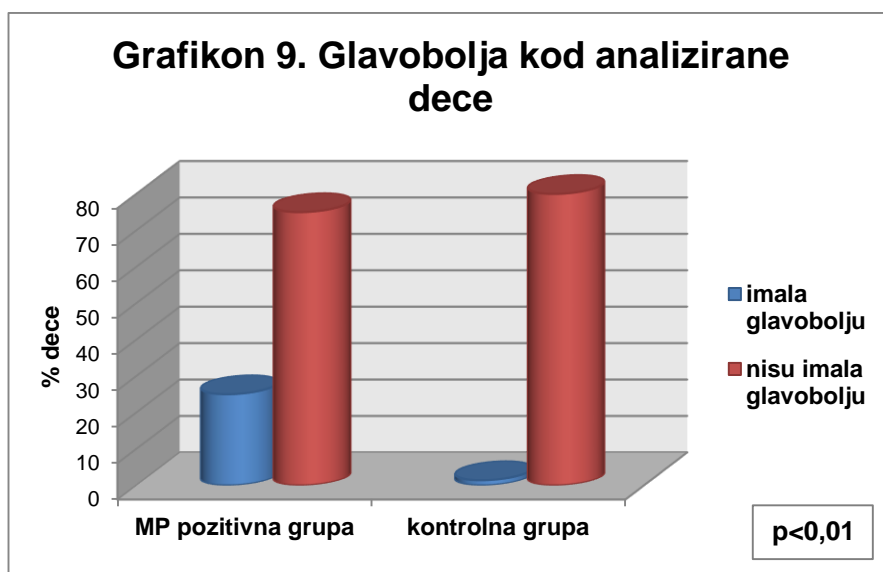
U MP pozitivnoj grupi, 2 (8,3%) dece je prema podacima dobijenih od roditelja imalo otežano disanje, a 22 (91,7%) dece nije imalo navedenu tegobu, dok je u kontrolnoj grupi, 16 (11,3%) dece imalo otežano disanje, a 126 (88,7%) dece nije, bez postojanja statistički značajne razlike ($p=0,669$; $p>0,05$).

4.4.1.6. Bol u grudima

Dvoje (8,3%) dece u MP pozitivnoj grupi imalo je bol u grudima, a 22 (91,7%) dece nije imalo bol u grudima. U kontrolnoj grupi, 10 (7,0%) dece je imalo bol u grudima, a 132 (93,0%) dece nije imalo navedeni simptom, te navedena razlika u učestalosti bola u grudima nije bila statistički značajna ($P=0,821$; $p>0,05$).

4.4.1.7. Glavobolja

Glavobolja je bila prisutna kod 6 (25%) dece u MP pozitivnoj grupi, a kod 18 (75%) dece iz iste grupe ovaj simptom nije bio prisutan. Samo 2 (1,4%) dece u kontrolnoj grupi imalo je glavobolju, dok 140 (98,4%) dece nije. Ova razlika u učestalosti glavobolje kod dece MP pozitivne i kontrolne grupe je bila visoko statistički značajna ($p=0,001$; $p<0,01$) (Grafikon 9). Učestalost glavobolje je bila visoko statistička značajno veća kod dece MP pozitivne grupe u odnosu na decu kontrolne grupe.



4.4.1.8. Gubitak apetita

U MP pozitivnoj grupi, 6 (25%) dece je, prema anamnestičkim podacima imalo gubitak apetita, dok je 18 (75%) dece imalo uobičajen apetit. Kod 94 (66,2%) dece kontrolne grupe bio je prisutan gubitak apetita, dok je kod 48 (33,8%) dece apetit bio očuvan. Ova razlika u učestalosti gubitka apetita kod dece navedenih grupa nije bila statistički značajna ($p=0,395$; $p>0,05$).

4.4.1.9. Povraćanje

Povraćanje je kao simptom, bilo prisutno kod 4 (16,6%) dece u MP pozitivnoj grupi, dok 20 (83,3%) dece iz iste grupe nije imalo ovaj simptom. Slični podaci dobijeni su analizom dece iz kontrolne grupe, u kojoj je kod 30 (21,2%) dece bilo prisutno povraćanje, a kod 112 (78,9%) dece nije, te razlika nije bila statistički značajna ($p=0,617$; $p>0,05$).

4.4.1.10. Dijareja

U MP pozitivnoj grupi, 2 (8,3%) dece je imalo dijareju a 22 (91,7%) dece nije, dok je u kontrolnoj grupi, 132 (93,0%) dece imalo dijareju a 10 (7,0%) dece nije imalo ovaj simptom, bez postojanja statistički značajne razlike ($p=0,821$; $p>0,05$).

4.4.1.11. Bol u stomaku

Bol u stomaku je bio prisutan kod 4 (16,7%) dece u MP pozitivnoj grupi, dok 20 (83,3%) dece iz iste grupe nije imalo bol u stomaku. U kontrolnoj grupi bol u stomaku imalo je 16 (11,3%) dece, a 126 (88,7%) dece je bilo bez navedenog simptoma, ali ova razlika nije dostigla statističku značajnost ($p=0,452$; $p>0,05$).

4.4.2. Antibiotička terapija

Kod svih ispitanika analizirali smo antibiotičku terapiju koju su deca dobijala pre uključenja u studiju.

Od 166 dece sa pneumonijom, 64 (38,6%) dece je pre uključenja u studiju dobijalo antibiotik, a od toga 30 (46,9%) dece je lečeno penicilinskim antibioticima, a 34 (53,1%) dece cefalosporinima. Nasuprot tome, 102 (61,4%) dece nije lečeno antibioticima pre uključenja u studiju.

Kada smo odvojeno analizirali antibiotsku terapiju kod dece MP pozitivne grupe, utvrdili smo da je 12 (50%) dece dobijalo antibiotik, a preostalih 12 (50%) dece nije lečeno antibioticima. U kontrolnoj grupi je 52 (36,6%) dece dobijalo antibiotik, dok 90 (63,4%) dece nije. Međutim, razlika u učestalosti primene antibiotske terapije između navedenih grupa nije bila statistički značajna ($p=0,452$; $p>0,05$).

Od 12 dece u MP pozitivnoj grupi koji su lečeni antibiotskom terapijom, 8 (66,7%) dece je dobijalo penicilinske antibiotike, a 4 (33,3%) dece cefalosporine. Od 52 dece kontrolne grupe koji su lečeni antibioticima, 22 (42,3%) dece je primalo penicilinske antibiotike, dok je 30 (57,7%) dece lečeno cefalosporinima. Navedena razlika u vrsti antibiotske terapije kod dece MP pozitivne i kontrolne grupe nije bila statistički značajna ($p=0,127$; $p>0,05$).

4.4.3. Atopija i astma

U MP pozitivnoj grupi, 12 (50%) dece je imalo atopiju i/ili astmu, a 12 (50%) dece nije imalo atopiju i/ili astmu. U kontrolnoj grupi, 60 (42,3%) dece je imalo atopiju i/ili astmu, dok 82 (57,7%) dece nije imalo navedene bolesti. Ova razlika u prisustvu atopije i/ili astme kod dece MP pozitivne i kontrolne grupe nije bila statistički značajna ($p=0,479$; $p>0,05$).

Osmoro (33,3%) dece u MP pozitivnoj grupi imalo je alergiju i/ili astmu u porodici, a 16 (66,7%) dece nije imalo ove bolesti u porodici. Kod dece kontrolne grupe, 34 (23,9%) dece je imalo pozitivnu porodičnu anamnezu za alergiju i astmu, dok 108 (76,1%) dece nije imalo ove bolesti u porodici. Međutim, razlika u prisustvu alergije i/ili atopije u porodici kod dece u pomenutim grupama nije dostigla statističku značajnost ($p=0,127$; $p>0,05$).

4.4.4. Fizikalni nalaz na uključenju u studiju

Zatim su kod sve dece sa pneumonijom analizirani podaci koji su dobijeni prilikom fizikalnog pregleda.

4.4.4.1. Hiperemija ždrela

Sva deca u MP pozitivnoj grupi imali su na uključenju u studiju hiperemiju ždrela, dok je u kontrolnoj grupi 138 (97,2%) dece imalo hiperemiju ždrela, a samo 4 (2,8%) dece nije, te razlika nije bila statistički značajna ($p=0,405$; $p>0,05$).

4.4.4.2. Obrazac disanja

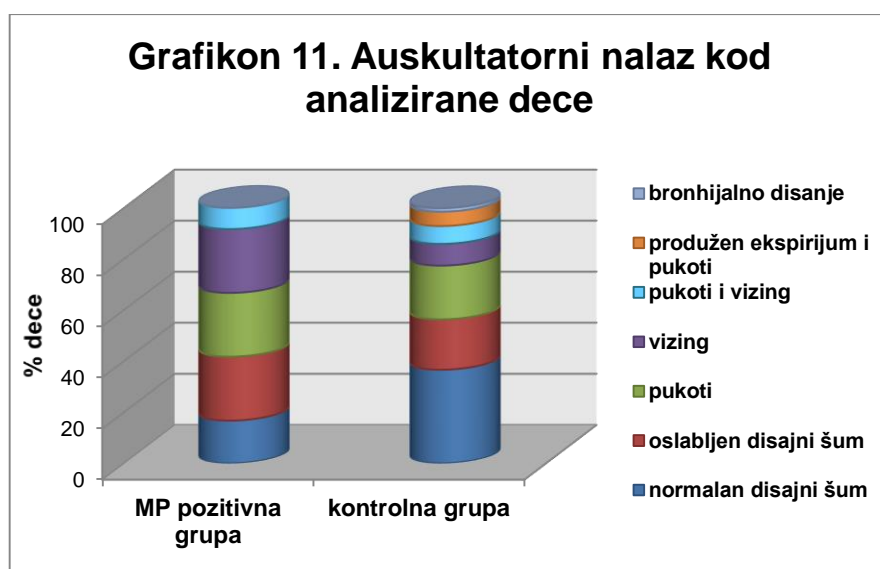
Na uključenju u studiju, 20 (83,4%) dece sa MP pneumonijom je imalo dobar obrazac disanja, dok je 2 (8,3%) dece iz iste grupe imalo tahipneju, a 2 (8,3) dece tahipneju sa dispnejom. U kontrolnoj grupi, 110 (77,5%) dece je bilo eupnoično, dok je 22 (15,5%) dece bilo tahipnoično, a 10 (7,7%) dece istovremeno tahipnoično i dispnoično. Ova razlika u obrazcu disanja nije bila statistički značajna ($p=0,649$; $p>0,05$). (Grafikon 10).



4.4.4.3. Auskultatorni nalaz na plućima

U MP pozitivnoj grupi, kod 4 (16,7%) dece auskultatorni nalaz na plućima je bio normalan, a kod 20 (83,3%) dece patološki, dok je u kontrolnoj grupi kod 52 (36,6%) dece auskultatorni nalaz na plućima bio normalan, a kod 90 (63,4%) dece patološki. Navedena razlika u auskultatornom nalazu na plućima kod dece u MP pozitivnoj i kontrolnoj grupi je bila na granici statističke značajnosti ($p=0,056$; $p>0,05$).

Detaljno analizirajući auskultatorni nalaz na plućima kod dece u MP pozitivnoj grupi uzvrdili smo da je 4 (16,7%) dece imalo normalan disajni šum, 6 (25%) dece oslabljen disajni šum, 6 (25%) dece kasnoinspirijumske pukote, 6 (25%) dece vizing i 2 (8,3%) dece kasnoinspirijumske pukote sa vizingom. Slični rezultati su dobijeni i analizom dece u kontrolnoj grupi, gde je 52 (36,6%) dece imalo normalan disajni šum, 28 (19,7%) dece oslabljen disajni šum, 30 (21,1%) dece kasnoinspirijumske pukote, 12 (8,5%) dece vizing, 8 (5,6%) dece produžen ekspirijum sa kasnoinspirijumskim pukotima, 10 (7,0%) dece kasnoinspirijumske pukote sa vizingom i 2 (1,4%) dece bronhijalno disanje. Nije zabeležena statistički značajna razlika vrsti auskultatornog nalaza kod dece MP pozitivne i kontrolne grupe ($p=0,135$; $p>0,05$). (Grafikon 11).



Kada smo odvojeno analizirali prisustvo vizinga pri auskultaciji pluća, utvrdili smo da je u MP pozitivnoj grupi 8 (33,3%) dece imalo vizing, dok 16 (66,7%) dece nije imalo vizing. U kontrolnoj grupi, 22 (15,5%) dece je imalo vizing, a 120 (84,5%) dece nije. Ova razlika u učestalosti vizinga pri auskultaciji pluća kod dece MP pozitivne i kontrolne grupe je bila statistički značajna ($p=0,036$; $p<0,05$) (Grafikon 12). Učestalost vizinga je bila statistička značajno veća kod dece MP pozitivne grupe u odnosu na dece kontrolne grupe.



Analizirajući prisustvo kasnoinspirijumskih pukota pri auskultaciji pluća, zabeležili smo da je 8 (33,3%) dece u MP pozitivnoj grupi imalo kasnoinspirijumske pukote, dok 16 (66,7%) dece iz iste grupe nije imalo navedeni propratni nalaz. U kontrolnoj grupi, 48 (33,8%) dece je imalo kasnoinspirijumske pukote, a 94 (66,2%) dece nije. Navedena razlika u učestalosti kasnoinspirijumskih pukota pri auskultaciji pluća kod dece u pomenutim grupama nije bila statistički značajn ($p=0,606$; $p>0,05$).

4.4.5. Udruženost demografskih i kliničkih karakteristika sa pneumonijom uzrokovanom bakterijom *Mycoplasma pneumoniae*

Kada smo logističkom regresijom analizirali kliničke varijable koje su se značajno češće javljale kod dece u MP pozitivnoj grupi, utvrdili smo visoko statistički značajnu udruženost između MP pneumonije i glavobolje (odnos šansi [OR] = 36,077, 95% inteval poverenja [CI] = 4,897-265,811, $p=0,001$; $p<0,01$), vizinga (OR=5,681, 95% CI=1,776-18,175, $p=0,003$, $p<0,01$) i muškog pola (OR=0,162, 95% CI=0,048-0,548, $p=0,003$, $p<0,01$). Takođe, utvrdili smo statistički značajnu udruženost između MP pneumonije i uzrasta preko pet godina (OR=3,067, 95% CI=1,016-9,251, $p=0,047$; $p<0,05$).

4.5. Laboratorijski nalazi

Kod sve dece na uključenju u studiju analizirali smo i obradili vrednosti osnovnih laboratorijskih (hematoloških i biohemijskih) parametara.

4.5.1. Hematološki nalazi

Analizirane su i upoređene vrednosti ukupnog broja leukocita, leukocitarna formula, broj trombocita i eritrocita.

4.5.1.1. Lekociti

U MP pozitivnoj grupi, 14 (58,4%) dece je imalo normalan broj leukocita za uzrast, 2 (8,3%) dece je imalo leukopeniju, 8 (33,3%) dece leukocitozu, dok je u kontrolnoj grupi 60 (42,2%) dece imalo normalan broj leukocita, 16 (11,3) dece je imalo snižen, a 66 (46,5) dece povišen broj leukocita, međutim pomenuta razlika nije dostigla statističku značajnost ($p=0,341$; $p>0,05$).

Kada smo analizirali ukupan broj leukocita kod ispitivane dece, utvrdili smo da je kod dece MP pozitivne grupe prosečna vrednost leukocita iznosila $13,200 \pm 8,279 \text{ } 10^9/\text{L}$, dok su dece kontrolne grupe imala prosečan broj leukocita od $16,807 \pm 10,513 \text{ } 10^9/\text{L}$, ali ova razlika nije bila statistički značajna ($p=0,160$; $p>0,05$).

Analizirajući leukocitarnu formulu, utvrdili smo da su dece MP pozitivne grupe u proseku imala $69,37 \pm 19,35 \%$ granulocita, dok su dece kontrolne grupe prosečno imala $68,96 \pm 18,60 \%$ granulocita, bez postojanja statistički značajne razlike ($p=0,783$; $p>0,05$). Potom smo utvrdili da su dece MP pozitivne grupe u proseku imala $24,03 \pm 17,25 \%$ limfocita, a dece kontrolne grupe u proseku $24,882 \pm 15,65 \%$ limfocita, ali ova razlika nije bila statistički značajna ($p=0,526$; $p>0,05$). Kod dece u MP pozitivnoj grupi monociti su u proseku bili $5,82 \pm 3,50\%$, a kod dece u kontrolnoj grupi $4,64 \pm 2,73 \%$, ali ni ova razlika nije dostigla statističku značajnost ($p=0,091$; $p>0,05$).

4.5.1.2. Trombociti

U MP pozitivnoj grupi, 20 (83,4%) dece je imalo normalan broj trombocita, 2 (8,3%) dece je imalo trombocitopeniju i 2 (8,3%) dece trombocitozu. Slični podaci su dobijeni analizom dece u kontrolnoj grupi, gde je 126 (88,8%) dece imalo normalan broj trombocita, 8 (5,6) dece trombocitopeniju i 8 (5,6) dece trombocitozu, te nije zabeležena statistički značajna razlika ($p=0,754$; $p>0,05$).

Zatim smo analizirali broj trombocita kod ispitivane dece i utvrdili da su dece u MP pozitivnoj grupi prosečno imala $280,00 \pm 109,396 \text{ } 10^9/\text{L}$ trombocita, dok su dece u kontrolnoj grupi u proseku imala $273,83 \pm 98,524 \text{ } 10^9/\text{L}$ trombocita, ali ova razlika nije bila statistički značajna ($p=0,861$; $p>0,05$).

4.5.1.2. Eritrociti

Deca u MP pozitivnoj grupi su prosečno imala $4,557 \pm 0,568 \cdot 10^{12}/L$ eritrocita, dok su dece kontrolne grupe u proseku imala $4,540 \pm 0,444 \cdot 10^{12}/L$ eritrocita, što je bilo bez statistički značajne razlike ($p=0,569$; $p>0,05$).

Kod dece MP pozitivne grupe, prosečna vrednost hemoglobina je iznosila $126,583 \pm 21,938$ g/L, dok je kod dece kontrolne grupe prosečna vrednost hemoglobina bila $120,408 \pm 14,501$ g/L, a ova razlika je bila na granici statističke značajnosti ($p=0,053$; $p>0,05$).

Deca u MP pozitivnoj grupi su imala prosečnu sedimentaciju od $33,33 \pm 13,183$, dok je kod dece kontrolne grupe prosečna sedimentacija iznosila $38,78 \pm 26,281$, ali ova razlika u vrednosti sedimentacije nije dostigla statističku značajnost ($p=0,958$, $p>0,05$).

4.5.2. Biohemijski nalazi

Takođe smo uporedili vrednosti biohemijskih nalaza kod dece u MP pozitivnoj i kontrolnoj grupi.

4.5.2.1. C reaktivni protein

U MP pozitivnoj grupi, 2 (8,3%) dece je imalo CRP u granicama referentnih vrednosti, dok je 22 (92,1%) dece imalo povišen CRP. U kontrolnoj grupi 16 (11,3%) dece je imalo CRP u granicama referentnih vrednosti, dok je kod 126 (88,7%) dece CRP bio povišen, te razlika nije bila statistički značajna ($p=0,669$; $p>0,05$).

Kada smo analizirali vrednost CRP kod ispitivane dece, utvrdili smo da je kod dece MP pozitivne grupe prosečna vrednost CRP iznosila $51,850 \pm 68,286$ mg/L, dok su dece

kontrolne grupe imala prosečan CRP od $90,966 \pm 96,920$ mg/L, ali ova razlika nije bila statistički značajna ($p=0,065$; $p>0,05$).

4.5.2.2. Ostali biohemijski nalazi

Bilirubin je kod dece u MP pozitivnoj grupi, imao prosečnu vrednost od $9,08 \pm 1,139$ $\mu\text{mol/L}$, dok je kod dece kontrolne grupe prosečna vrednost bilirubina iznosila $9,33 \pm 2,912$ $\mu\text{mol/L}$, ali ova razlika nije bila statistički značajna ($p=0,819$; $p>0,05$).

Kod dece u MP pozitivnoj grupi, zabeležena je prosečna vrednost kreatinina od $57,42 \pm 19,602$ $\mu\text{mol/L}$, dok je kod dece u kontrolnoj grupi prosečna vrednost kreatinina iznosila $52,59 \pm 19,994$ $\mu\text{mol/L}$, ali navedena razlika nije dostigla statističku značajnost ($p=0,137$; $p>0,05$).

Prosečna vrednost ureje se nije statistički značajno razlikovala ($p=0,620$; $p>0,05$) kod dece u MP pozitivnoj grupi koj su imali prosečnu vrednost ureje od $3,483 \pm 1,282$ mmol/L i kod dece u kontrolnoj grupi kod kojih je prosečna vrednost ureje iznosila $3,714 \pm 1,54$ L mmol/L.

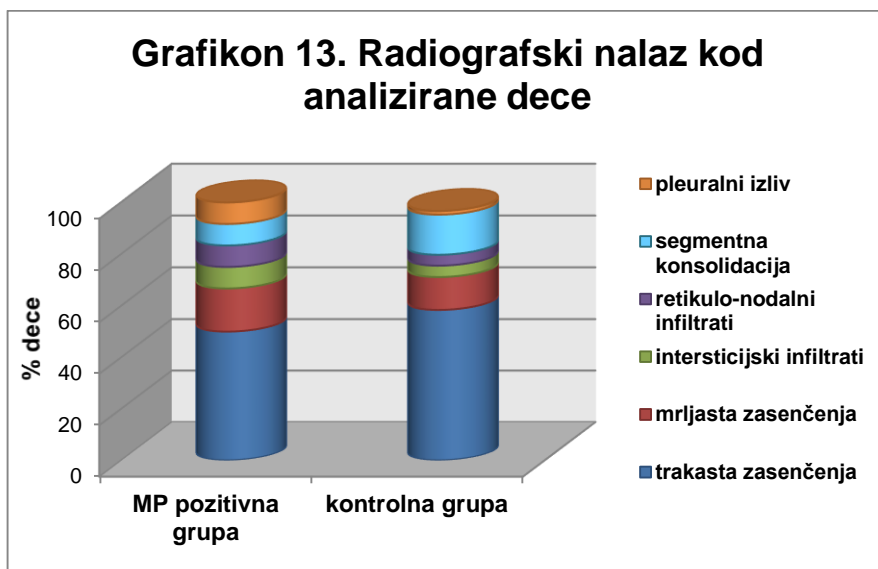
Analizirajući vrednost alanin transferaze (ALT) u serumu kod ispitivane dece, zabeležili smo da je kod dece u MP pozitivnoj grupi prosečna vrednost ovog enzima bila $31,25 \pm 4,901$ U/L, dok je kod dece u kontrolnoj grupi prosečna vrednost iznosila $30,18 \pm 5,638$ U/L, bez statistički značajne razlike ($p=0,352$; $p>0,05$).

Slične podatke dobili smo i kada smo analizirali vrednosti aspartat aminotransferaze (AST) kod dece u pomenutim grupama. Deca u MP pozitivnoj grupi su imala prosečnu vrednost ovog enzima od $29,92 \pm 28,01$ U/L, dok je prosečna vrednost pomenutog enzima kod dece kontrolne grupe iznosila $28,01 \pm 7,608$ U/L, ali ova razlika nije dostigla statističku značajnost ($p=0,556$; $p>0,05$).

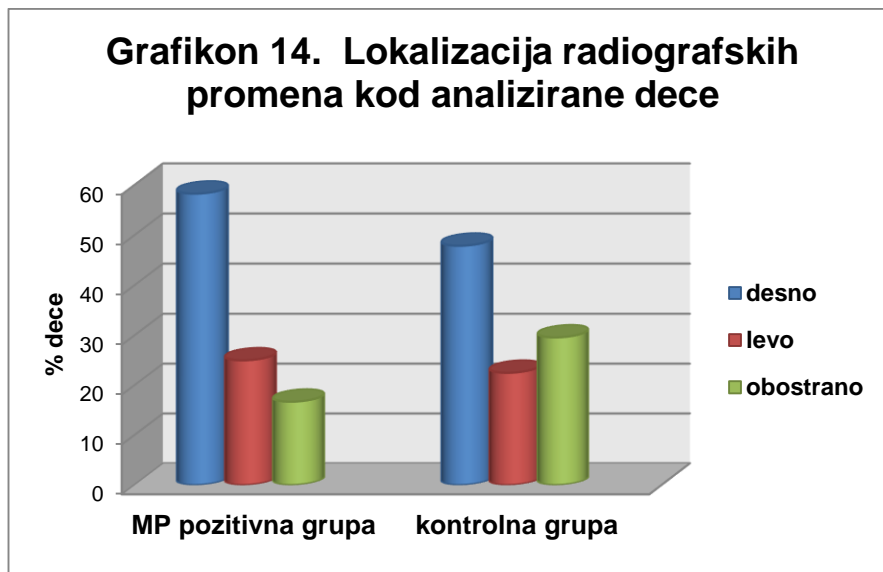
Kod dece u MP pozitivnoj grupi zabeležena je prosečna vrednost enzima laktat-dehidrogenaze od $203,17 \pm 18,100$ U/L, dok je kod dece u kontrolnoj grupi prosečna vrednost ovog enzima iznosila $212,23 \pm 38,033$ U/L, ali navedena razlika nije bila statistički značajna ($p=0,445$; $p>0,05$).

4.6. Radiografski nalaz

Analizirajući radiografski nalaz kod dece u MP pozitivnoj grupi, utvrdili smo da je 12 (50,0%) dece imalo trakasta zasenčenja, 4 (16,7%) dece mrljasta zasnečenja, 2 (8,3%) dece intersticijske infiltrate, 2 (8,3%) dece retikulo-nodalne infiltrate, 2 (8,3%) dece segmentu ili lobarnu konsolidaciju i 2 (8,3%) dece pleuralni izliv. Slične radiografske promene imala su i deca kontrolne grupe, gde je 83 (58,4%) dece imalo trakasta zasenčenja, 18 (12,7%) dece mrljasta zasnečenja, 11 (7,7%) dece intersticijske infiltrate, 6 (4,2%) dece retikulo-nodalne infiltrate, 22 (15,5) dece segmentu ili lobarnu konsolidaciju i 2 (1,4%) dece pleuralni izliv. Navedena razlika u radiografskom nalazu kod dece u MP pozitivnoj i kontrolnoj grupi nije bila statistički značajna ($p=0,201$; $p>0,05$) (Grafikon 13).



Daljom analizom, utvrdili smo da je u MP pozitivnoj grupi 14 (58,3%) dece imalo radiografske promene sa desne strane, 6 (25%) dece sa leve strane, dok je 4 (16,7%) dece imalo obostrane promene. U kontrolnoj grupi kod 68 (47,9%) dece radiografske promene su bile lokalizovane sa desne strane, kod 32 (22,5%) dece sa leve strane i kod 42 (29,6%) dece obostrano. Ova razlika u lokalizaciji radiografskih promena nije dostigla statističku značajnost ($p=0,418$; $p>0,05$) (Grafikon 14).



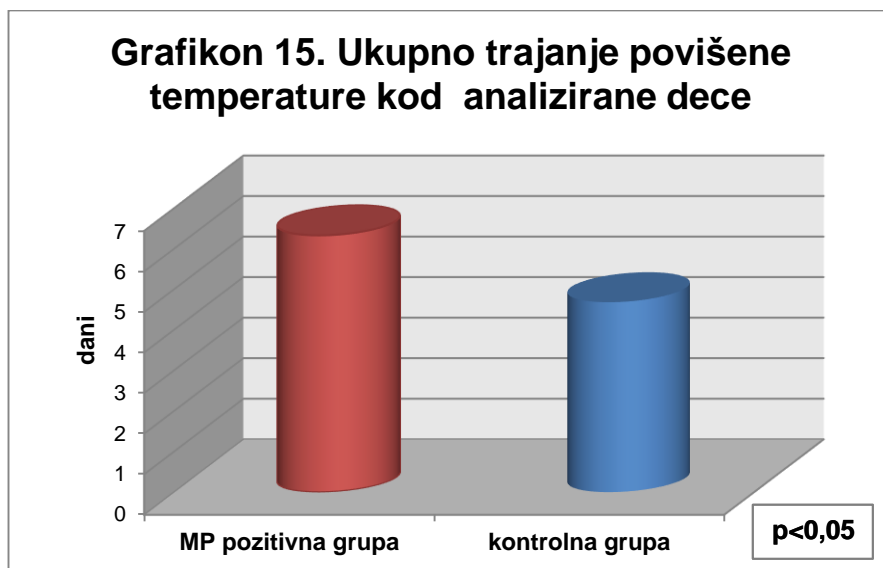
4.7. Klinički tok i komplikacije bolesti

Kod dece sa MP pneumonijom analizirali smo potrebu za bolničkim lečenjem, klinički tok bolesti, antibiotsku terapiju, kao i pojavu komplikacija bolesti.

U MP pozitivnoj grupi, na bolničko lečenje je primljeno 22 (91,7%) dece, dok je 2 (8,3%) dece lečeno ambulantno. Slični rezultati su dobijeni i u kontrolnoj grupi gde je 126 (88,7%) dece hospitalizovano, dok je 16 (11,3%) dece lečeno ambulantno. Razlika u učestalosti hospitalizacije kod dece MP pozitivne i kontrolne grupe nije bila statistički značajna ($p=0,669$; $p>0,05$).

Nijedno dete kako iz MP pozitivne, tako i iz kontrolne grupe nije imao hipoksemiju, nije zahtevao oksigenoterapiju ili lečenje u jedinici intenzivne nege.

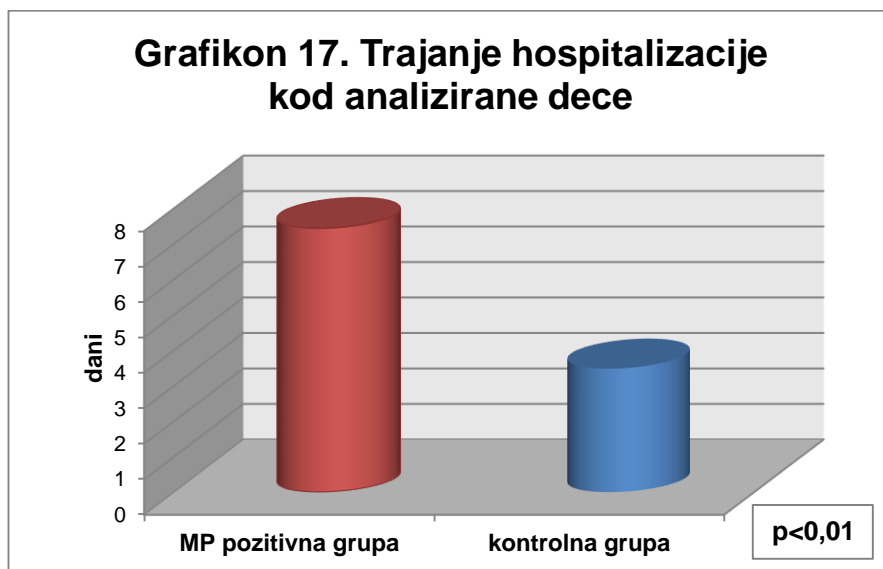
Kod dece MP pozitivne grupe, povišena temperatura je ukupno trajala od 0-12 dana sa prosečnom vrednošću od $6,33 \pm 3,73$ dana, dok je kod dece kontrolne grupe povišena temperatura prosečno trajala $4,68 \pm 3,23$ dana, sa varijacijama u opsegu od 0 do 16 dana. Zabeležene razlike u ukupnoj dužini trajanja povišene temperature kod dece MP pozitivne i kontrolne grupe bile su statistički značajne ($p=0,027$; $p<0,05$) (Grafikon 15). Kod dece MP pozitivne grupe povišena temperatura je ukupno trajala značajno duže u odnosu na decu kontrolne grupe.



Kod dece MP pozitivne grupe, kašalj je trajao od 2-30 dana sa prosečnom vrednošću od $16,05 \pm 5,38$ dana, dok je kod dece kontrolne grupe kašalj prosečno trajao $8,32 \pm 5,51$ dana sa varijacijama u opsegu od 0 do 34 dana. Zabeležene razlike u dužini trajanja kašlja kod dece MP pozitivne i kontrolne grupe su bile statistički značajne ($p=0,015$; $p<0,05$). (Grafikon 16)

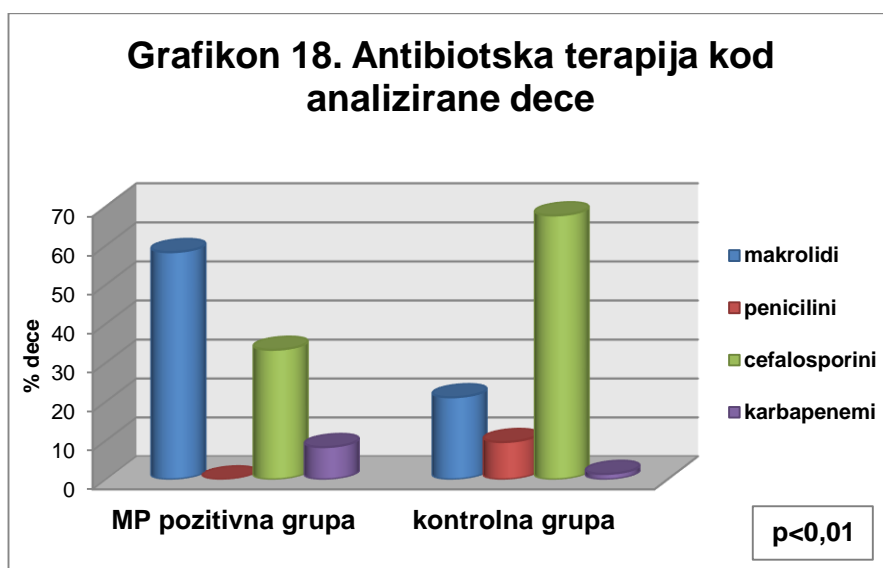


Deca MP pozitivne grupe su prosečno bila hospitalizovani $7,33 \pm 3,40$ dana, sa varijacijama u opsegu od 0-13 dana, dok su deca kontrolne grupe prosečno bila hospitalizovani 0-20 dana, sa prosečnom vrednošu od $3,48 \pm 2,89$ dana. Navedene razlike u dužini hospitalizacije kod dece MP pozitivne i kontrolne grupe bile su visoko statistički značajne ($p=0,001$; $p < 0,01$) (Grafikon 17). Deca MP pozitivne grupe bili su visoko statistički značajno duže hospitalizovani u odnosu na decu kontrolne grupe.



Nijedno dete iz MP pozitivne grupe nije imao neku od vanplućnih manifestacija bolesti. Sva deca imala su dobar ishod bolesti i u potpunosti su se oporavila. Takođe, zabeležili smo da nijedno dete iz MP pozitivne grupe nije razvilo neku od komplikacija bolesti.

Kada smo analizirali antibiotsku terapiju, utvrdili smo da je u MP pozitivnoj grupi 14 (58,3%) dece lečeno makrolidima, nijedno dete nije lečeno penicilinskim antibioticima, dok je 8 (33,3%) dece lečeno cefalosporinima a 2 dece (8,3%) karbapenemima. U kontrolnoj grupi, kod 30 (21,1%) dece su ordinirani makrolidi, kod 14 (9,6%) dece penicilinski antibiotici, kod 96 (67,6) dece cefalosporini i kod 2 (1,4%) dece karbapenemi. Ova razlika u vrsti antibiotske terapije je bila visoko statistički značajna ($p=0,001$; $p<0,01$) (Grafikon 18). Makrolidi su visoko statistički značajna češće ordinirani deci MP pozitivne grupe u odnosu na decu kontrolne grupe kod kojih su načešće ordinirani cefalosporini.



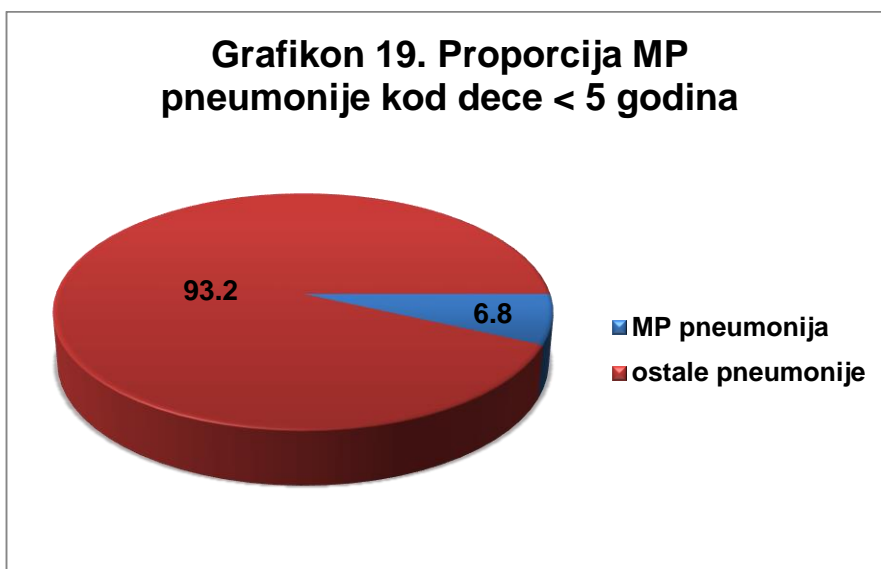
Analizirajući samo decu MP pozitivne grupe, utvrdili smo da je kod dece koji su lečena makrolidima povišena temperatura trajala od 0-12 dana sa prosečnom vrednošću od $6,57 \pm 4,29$ dana, dok je kod dece koji nisu lečeni makrolidima, povišena temperatura

prosečno trajala $6,00 \pm 2,98$ dana sa varijacijama u opsegu od 2 do 10 dana, pri čemu nije bilo statistički značajne razlike ($p=0,666$; $p>0,05$)

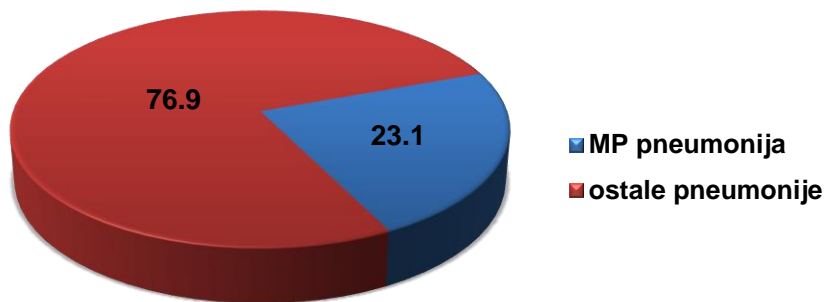
Dužina hospitalizacije je kod dece MP pozitivne grupe koja su lečena makrolodima, prosečno iznosila $7,43 \pm 3,63$ dana, sa varijacijama u opsegu od 0-10 dana, dok su deca iz iste grupe koji nisu lečeni makrolidima, prosečno bila hospitalizovani 6-13 dana, sa prosečnom vrednošću od $8,60 \pm 3,63$ dana, ali ove razlike nisu bile statistički značajne ($p=0,437$; $p>0,05$).

4.8. Kliničke, laboratorijske i radiografske karakteristike dece sa pneumonijom uzrokovanom bakterijom *Mycoplasma pneumoniae* uzrasta mlađeg od pet godina i dece uzrasta pet do 15 godina

Kada smo odvojeno analizirali decu uzrasta mlađeg od pet godina, utvrdili smo da je učestalost pneumonije uzrokovane MP u ovoj uzrastnoj grupi iznosila 6,8%. Suprotno tome, kod dece uzrasta pet do 15 godina, 23,1% svih pneumonija bilo je uzrokovano MP (Grafikoni 19 i 20).



Grafikon 20. Proporcija MP pneumonije kod dece 5-15 godina



Zatim smo dodatno analizirali i uporedili demografske podatke, kliničke karakteristike, osnovne laboratorijske nalaze i radiografski nalaz kod dece sa MP pneumonijom koja su bila uzrasta mlađeg od pet godina i dece sa MP pneumonijom koja su bila uzrasta pet do 15 godina.

4.8.1. Demografski podaci dece sa pneumonijom uzrokovanom bakterijom *Mycoplasma pneumoniae*

Svih 6 dece (100%) sa MP pneumonijom uzrasta mlađeg od pet godina bilo je muškog pola, dok je od 18 dece sa MP pneumonijom koja su imala pet do 15 godina, 12 (66,7%) bilo muškog i 6 (33,7%) ženskog pola, ali ova razlika u distribuciji analizirane dece prema polu nije bila statistički značajna ($p=0,102$; $p>0,05$).

Starost dece sa MP pneumonijom uzrasta mlađeg od pet godina se u trenutku uključenja u studiju kretala od 16-46 meseci, sa prosečnom vrednošću od $26,33\pm 6,22$ meseci ($2,19\pm 0,52$ godina), dok su deca sa MP pneumonijom starije uzrastne grupe bila

prosečnog uzrasta od $149,44 \pm 8,17$ meseci ($12,45 \pm 0,68$ godina), sa varijacijama u opsegu od 63-179 meseci.

4.8.2. Klinička prezentacija dece sa pneumonijom uzrokovanom bakterijom *Mycoplasma pneumoniae*

Kod dece sa MP pneumonijom uzrasta do pet godina i uzrasta 5-15 godina analizirali smo i uporedili učestalost i trajanje različitih simptoma pre uključenja u studiju.

4.8.3.1. Trajanje bolesti pre uključenja u studiju kod dece sa pneumonijom uzrokovanom bakterijom *Mycoplasma pneumoniae*

Kod dece sa MP pneumonijom koja su bila mlađa od pet godina, simptomi su prosečno trajali $4,33 \pm 0,76$ dana pre uključenja u studiju, sa varijacijama u opsegu od 2 do 6 dana. Kod dece sa MP pneumonijom koja su bila uzrasta pet do 15 godina, trajanje simptoma pre uključenja u studiju se kretalo od 2-20 dana, sa prosečnom vrednošću od $8,33 \pm 1,23$ dana, ali navedene razlike nisu dostigle statističku značajnost ($p=0,119$; $p>0,05$).

4.8.2.2. Povišena temperatura kod dece sa pneumonijom uzrokovanom bakterijom *Mycoplasma pneumoniae*

Od dece sa MP pneumonijom koja su bila uzrasta mlađeg od pet godina, povišenu temperaturu je pre uključenja u studiju imalo 4 (66,7%) dece, dok 2 (33,3%) dece iz pomenute grupe nije imalo povišenu temperaturu. Analizom podataka kod dece sa MP pneumonijom koja su bila uzrasta pet do 15 godina, utvrdili smo da je 16 (88,9%) dece imalo povišenu temperaturu, a 2 (11,1) dece nije. Razlika u učestalosti povišene temperature između ove dve starosne grupe dece sa MP pneumonijom nije bila statistički značajna ($p=0,206$; $p>0,05$).

U grupi dece sa MP pneumonijom mlađe od pet godina, povišena temperatura je pre uključenja u studiju trajala od 0-6 dana, sa prosečnom vrednošću od $3,67 \pm 1,17$ dana, dok je kod dece sa MP pneumonijom starijeg uzrasta, povišena temperatura prosečno trajala $6,11 \pm 0,88$ dana, sa varijacijama u opsegu od 0 do 11 dana. Zabeležene razlike u dužini trajanja povišene temperature kod dece sa MP pneumonijom koja su bila uzasta do pet godina i uzrasta pet do 15 godina nisu bile statistički značajne ($p=0,310$; $p>0,05$).

Najviša temperatura, je prema anamnestičkim podacima kod dece sa MP pneumonijom koja su bila mlađa od pet godina prosečno iznosila $37,80 \pm 0,38^{\circ}\text{C}$, sa varijacijama u opsegu od $36,6-38,5^{\circ}\text{C}$, dok se najviša temperatura kod dece sa MP pneumonijom koja su imala pet do 15 godina, kretala od $36,6-40,4^{\circ}\text{C}$ sa prosečnom vrednošću od $38,80 \pm 0,27^{\circ}\text{C}$, ali ove razlike nisu dostigle statističku značajnost ($p=0,090$; $p<0,05$).

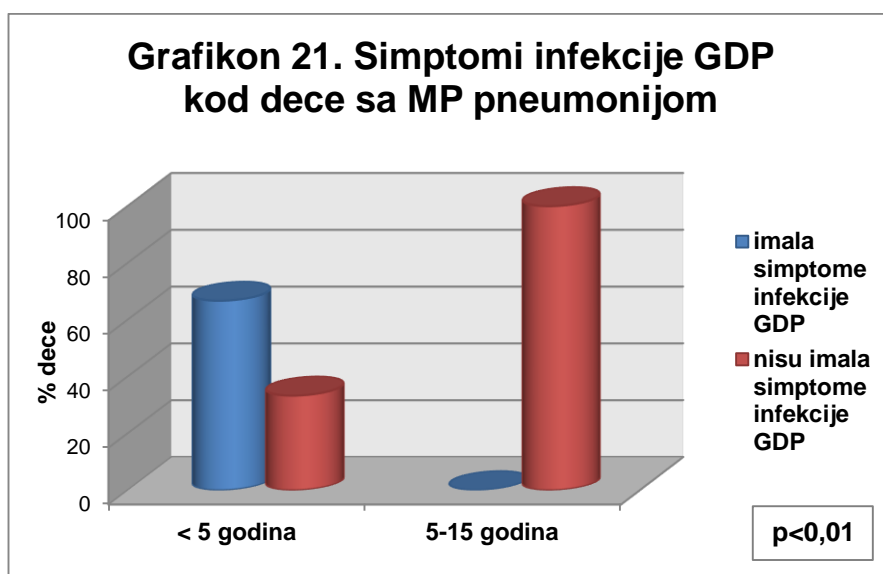
4.8.2.3. Kašalj kod dece sa pneumonijom uzrokovanom bakterijom *Mycoplasma pneumoniae*

Prema dobijenim podacima od roditelja, svih 6 (100%) dece sa MP pneumonijom koja su bila mlađa od pet godina i svih 18 (100%) dece sa MP pneumonijom uzrasta pet do 15 godina su kašljala. Slični podaci dobijeni analizom kvaliteta kašlja, svih 6 (100%) dece mlađeg i svih 18 (100%) dece starijeg uzrasta kašljali su suvo.

Kod dece sa MP pneumonijom koja su bila uzrasta do pet godina, kašalj je prosečno trajao $4,33 \pm 0,76$ dana pre uključenja u studiju, sa varijacijama u opsegu od 2 do 6 dana. Kod dece sa MP pneumonijom uzrasta pet do 15 godina, trajanje kašlja pre uključenja u studiju se kretalo od 2-20 dana, sa prosečnom vrednošću od $8,11 \pm 1,24$ dana. Nevedene rezlike u dužini trajanja kašlja kod dece ove dve starosne grupe nisu bile statistički značajne ($p=0,156$; $p<0,05$)

4.8.2.4. Simptomi infekcije gornjih disajnih puteva kod dece sa pneumonijom uzrokovanom bakterijom *Mycoplasma pneumoniae*

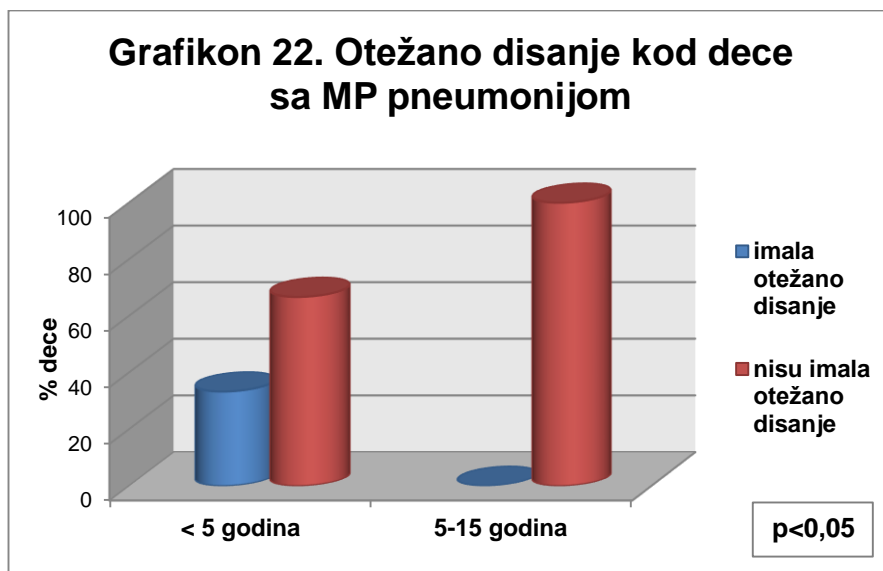
Prema dobijenim anamnestičkim podacim, kod 4 (66,7%) dece sa MP pneumonijom mlađe od pet godina, bili su prisutni simptomi infekcije gornjih disajnih puteva (GDP), dok kod 2 (33,3%) dece iz iste grupe nisu zabeleženi ovi simptomi. Nasuprot tome, svih 18 (100%) dece sa MP pneumonijom uzrasta pet do 15 godina, nisu imali simptome infekcije gornjih disajnih puteva. Ova razlika u učestalosti simptoma infekcije gornjih disajnih puteva kod dece mlađe i starije uzrastne grupe bila je visoko statistički značajna ($p=0,001$; $p<0,01$) (Grafikon 20). Kod dece sa MP pneumonijom, simptomi infekcije gornjih disajnih puteva su se visoko statistički značajna češće javljali kod dece koja su bila uzrasta mlađeg od pet godina u odnosu na stariju decu.



4.8.2.5. Otežano disanje kod dece sa pneumonijom uzrokovanom bakterijom *Mycoplasma pneumoniae*

U grupi dece sa MP pneumonijom uzrasta do pet godina, 2 (33,3%) dece je prema podacima dobijenih od roditelja imalo otežano disanje, a 4 (66,7%) dece nije. Od ukupno

18 dece sa MP pneumonijom iz starije uzrastne grupe, nijedno dete nije imalo otežano disanje, te je zabeležena razlika bila statistički značajna ($p=0,011$; $p<0,05$) (Grafikon 22). Otežanog disanja je značajno češće bilo pristno kod dece mlađe od pet godina sa MP pneumonijom u odnosu na decu sa MP pneumonijom uzrasta pet do 15 godina



4.8.2.6. Bol u grudima kod dece sa pneumonijom uzrokovanom bakterijom *Mycoplasma pneumoniae*

Od 6 dece sa MP pneumonijom koja su pripadala mlađoj uzrastnoj grupi, nijedno dete nije imalo bol u grudima, dok je od dece sa MP pneumonijom koja su imala pet do 15 godina, 2 (11,1) dece imalo bol u grudima, a 16 (88,9%) dece nije, te navedena razlika nije bila statistički značajna ($P=0,394$; $p>0,05$).

4.8.2.7. Glavobolja kod dece sa pneumonijom uzrokovanom bakterijom *Mycoplasma pneumoniae*

Glavobolju nije imalo nijedno, od 6 dece sa MP pneumonijom koja su bila uzrasta do pet godina, dok je u grupi dece sa MP pneumonijom koja su imala pet do 15 godina, 6 (33,3%) dece imalo glavobolju, a 12 (66,7%) dece nije, ali ova razlika nije bila statistički značajna ($p=0,102$; $p>0,05$).

4.8.2.8. Gubitak apetita kod dece sa pneumonijom uzrokovanom bakterijom *Mycoplasma pneumoniae*

Dvoje (33,3%) dece sa MP pneumonijom koja su bila mlađa od pet godina, je prema anamnestičkim podacima imalo gubitak apetita, dok je 4 (66,7%) dece iz ove grupe imalo uobičajen apetit. Kod 4 (22,2%) dece sa MP pneumonijom starijeg uzrasta, bio je prisutan gubitak apetita, dok je kod 14 (77,8%) dece iste grupe apetit bio očuvan. Ova razlika u učestalosti gubitka apetita kod dece navedenih starosnih grupa nije bila statistički značajna ($p=0,586$; $p>0,05$).

4.8.2.9. Povraćanje kod dece sa pneumonijom uzrokovanom bakterijom *Mycoplasma pneumoniae*

Ni jedno od 6 dece sa MP pneumonijom koja su bila uzrasta do pet godina, nije imlao povraćanje kao simptom, dok je 4 (22,2%) dece sa MP pneumonijom koja su bila uzrasta pet do 15 godina imalo ovaj simptom, a 14 (77,8%) dece iz iste grupe nije, ali ova razlika nije bila i statistički značajna ($p=0,206$; $p>0,05$).

4.8.2.10. Dijareja kod dece sa pneumonijom uzrokovanom bakterijom *Mycoplasma pneumoniae*

Od 6 dece sa MP pneumonijom koja su bila mlađa od pet godina, nijedno dete nije imalo dijareju, dok je u grupi dece sa MP pneumonijom koja su imala pet do 15 godina 2 (11,1%) dece imalo dijareju, a 16 (88,9%) dece nije, bez postojanja statistički značajne razlike ($p=0.394$; $p>0,05$).

4.8.2.11. Bol u stomaku kod dece sa pneumonijom uzrokovanom bakterijom *Mycoplasma pneumoniae*

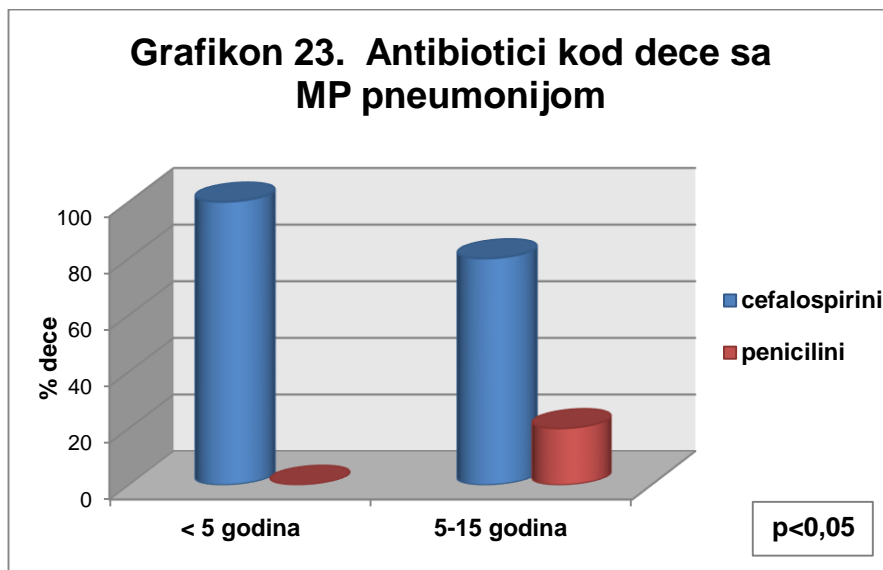
Bolovi u stomaku nisu bili prisutni kod dece sa MP pneumonijom koja su bila uzrasta mlađeg od pet godina, dok je u starijoj uzrastnoj grupi bolove u stomaku imalo 4 (22,2%) dece sa MP pneumonijom, a 14 (77,8%) dece je bilo bez navedenog simptoma, ali nevedena razlika nije dostigla statističku značajnost ($p=0,206$; $p>0,05$).

4.8.3. Antibiotička terapija kod dece sa pneumonijom uzrokovanom bakterijom *Mycoplasma pneumoniae*

Kada smo odvojeno analizirali antibiotičku terapiju koju su deca sa MP pneumonijom dobijala pre uključenja u studiju, došli smo do sledećih rezultata. U grupi dece koja su bili uzrasta do pet godina, 2 (33,3%) dece je dobijalo antibiotik, a preostalih 4 (66,7%) dece nije lečeno antibioticima. U grupi dece koja su bila uzrasta pet do 15 godina, 10 (55,6%) dece je dobijalo antibiotik, dok 8 (44,4%) dece nije. Međutim, razlika u učestalosti primene antibiotičke terapije između navedenih grupa nije bila statistički značajna ($p=0,4346$; $p>0,05$).

Oboje dece u mlađoj uzrastnoj grupi koja su lečena antibiotičkom terapijom dobijalo je cefalospirine. Od 10 dece starijeg uzrasta koja su lečena antibioticima, 2 (20,0%) dece je

primarno penicilinske antibiotike, dok je 8 (80,0%) dece lečeno cefalosporinima. Navedena razlika u vrsti antibiotske terapije kod dece uzrasta do pet godina i kod dece uzrasta pet do 15 godina je bila statistički značajna ($p=0,028$; $p<0,05$) (Grafikon 23). Deca sa MP pneumonijom koja su bila uzrasta mlađeg od pet godina su češće lečena cefalospirinskim antibioticima.

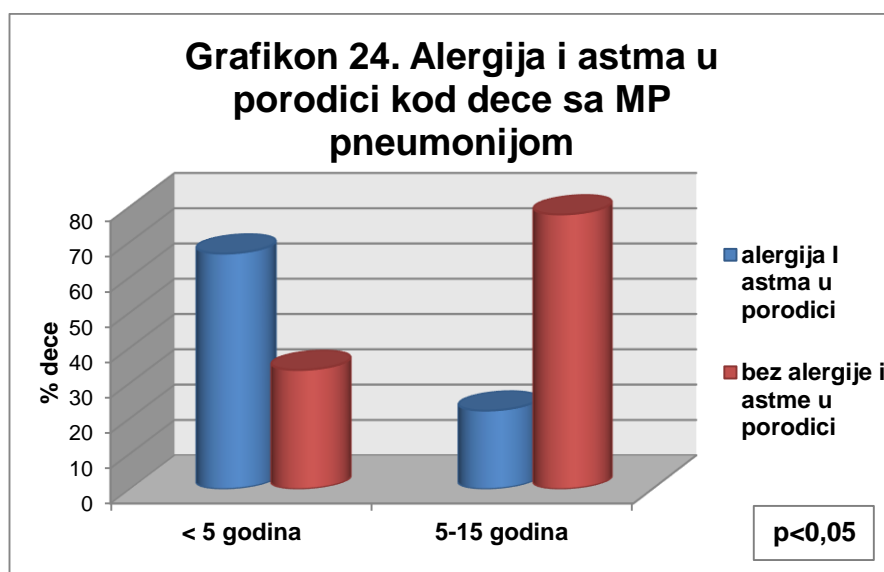


4.8.4. Atopija i astma kod dece sa pneumonijom uzrokovanom bakterijom *Mycoplasma pneumoniae*

U grupi dece sa MP pneumonijom koja su bila uzrasta do pet godina, 2 (33,3%) dece je imalo atopiju i/ili astmu, a 4 (66,7%) dece nije imalo atopiju i/ili astmu. U starijoj uzrastnoj grupi, 10 (55,6%) dece sa MP pneumonijom je imalo atopiju i/ili astmu, dok 8 (44,4%) dece sa MP pneumonijom nije imalo navedene bolesti. Ova razlika u prisustvu atopiju i/ili astmu kod dece mlađe od pet godina i dece uzrasta pet do 15 godina sa MP pneumonijom nije bila statistički značajna ($p=0,346$; $p>0,05$).

Četvoro (66,7%) dece sa MP pneumonijom mlađeg uzrasta imalo je alergiju i/ili astmu u porodici, a 2 (33,3%) dece nije imalo ove bolesti u porodici. U grupi dece sa MP

pneumonijom uzrasta pet do 15 godina, 4 (22,2%) dece je imalo pozitivnu porođnu anamnezu za alergiju i astmu, dok 14 (77,8%) dece nije imalo ove bolesti u porodici. Navedena razlika u prisustvu alergije i/ili atopije u porodici kod dece u pomenutim grupama je bila statistički značajna ($p=0,046$; $p<0,05$) (Grafikon 24). Dece sa MP pneumonijom uzrasta do pet godina češće su imala atopiju i/ili astmu u porodici u odnosi na dece sa MP pneumonijom koja su bila starijeg uzrasta.



4.8.5. Fizikalni nalaz na uključenju u studiju kod dece sa pneumonijom uzrokovanom bakterijom *Mycoplasma pneumoniae*

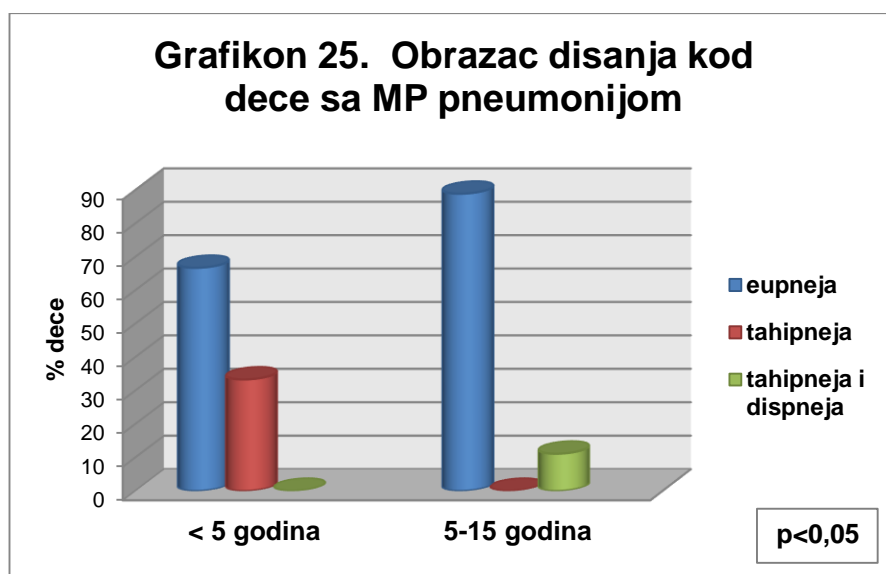
I u ovom slučaju, analizirani su podaci dobijeni fizikalnim pregledom dece sa MP pneumonijom.

4.8.5.1. Hiperemija ždrela kod dece sa pneumonijom uzrokovanom bakterijom *Mycoplasma pneumoniae*

Sva deca sa MP pneumonijom, kako ona uzrasta do pet godina, tako i deca uzrasta pet do 15 godina, imala su na uključenju u studiju hiperemiju ždrela.

4.8.5.2. Obrazac disanja kod dece sa pneumonijom uzrokovanom bakterijom *Mycoplasma pneumoniae*

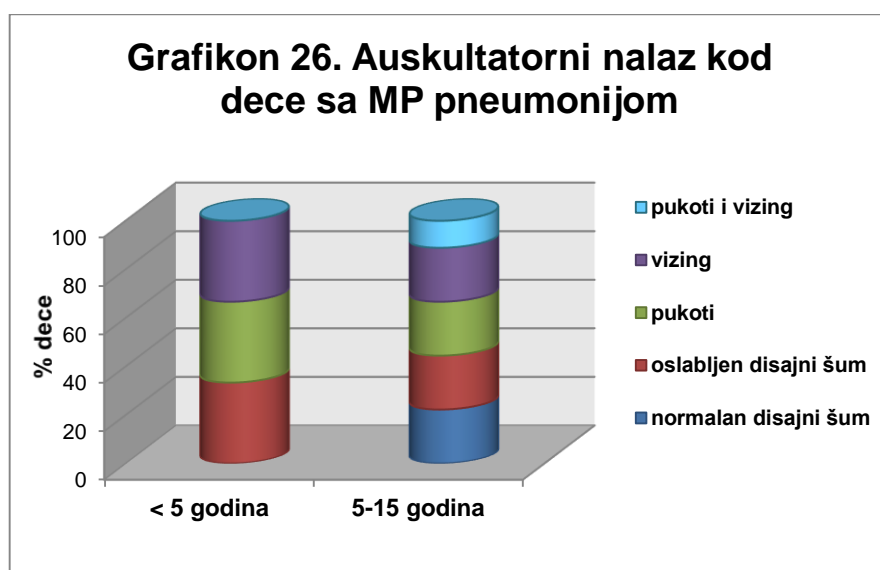
Na uključenju u studiju, 4 (66,7%) dece sa MP pneumonijom iz mlađe uzrastne grupe je imalo dobar obrazac disanja, dok je 2 (33,3%) dece iz iste grupe imalo tahipneju, a nijedno dete nije imao tahipneju sa dispnejom. U grupi dece sa MP pneumonijom koja su bila uzrasta pet do 15 godina, 16 (88,9%) dece je bilo eupnoično, nijedno dete nije bio tahipnoično, dok je 2 (11,1%) dece istovremeno bilo tahipnoično i dispnoično. Ova razlika u obrazcu disanja kod dece sa MP pneumonijom uzrasta do pet godina i dece uzrasta pet do 15 godina je bila statistički značajna ($p=0,03$; $p>0,05$). (Grafikon 25). Deca sa MP pneumonijom koja su bila mlađih od pet godina, češće su imala tahipneju u odnosu na decu sa MP infekcijom koja su bila uzrasta pet do 15 godina.



4.8.5.3. Auskultatorni nalaz na plućima kod dece sa pneumonijom uzrokovanom bakterijom *Mycoplasma pneumoniae*

U grupi dece sa MP pneumonijom koja su bila mlađa od pet godina, svih 6 dece je imalo patološki nalaz na plućima, dok je u grupi starije dece sa MP pneumonijom, kod 4 (22,2%) dece auskultatorni nalaz na plućima bio normalan, a kod 14 (77,8%) dece patološki. Navedena razlika u auskultatornom nalazu na plućima kod dece sa MP pneumonijom u navedenim uzrastnim grupama nije bila statistički značajna ($p=0,206$; $p>0,05$).

Dalje analizirajući auskultatorni nalaz na plućima kod dece sa MP pneumonijom uzrasta do pet godina, utvrdili smo da nijedno dete nije imalo normalan disajni šum, 2 (33,3%) dece je imalo oslabljen disajni šum, 2 (33,3%) dece kasnoinspirijumske pukote, 2 (33,3%) dece vizing, a nijedno dete nije imalo kasnoinspirijumske pukote sa vizingom. Slični rezultati su dobijeni i analizom dece sa MP pneumonijom koja su bila uzrasta pet do 15 godina, gde je 4 (22,2%) dece imalo normalan disajni šum, 4 (22,2%) dece oslabljen disajni šum, 4 (22,2%) dece kasnoinspirijumske pukote, 4 (22,2%) dece vizing, a 2 (11,1%) dece je imalo kasnoinspirijumske pukote sa vizingom. Nije zabeležena statistički značajna razlika u vrsti auskultatornog nalaza kod dece sa MP pneumonijom koja su bila mlađa od pet godina i dece koja su bila uzrasta pet do 15 godina ($p=0,615$; $p>0,05$). (Grafikon 26).



Kada smo odvojeno analizirali prisustvo vizinga pri auskultaciji pluća, utvrdili smo da je u grupi dece sa MP pneumonijom koja su bila uzrasta do pet godina, 2 (33,3%) dece imalo vizing, a 4 (66,7%) dece nije imalo vizing. U grupi starije dece sa MP pneumonijom, 6 (33,3%) dece je imalo vizing, a 12 (66,7%) dece nije. Ova razlika u učestalosti vizinga pri auskultaciji pluća kod dece sa MP pneumonijom u pomenutim uzrastnim grupama nije bila statistički značajna ($p=1,000$; $p>0,05$). Analizirajući prisustvo kasnoinspirijumskih pukota pri auskultaciji pluća kod dece MP pneumonijom, zabeležili smo da je 2 (33,3%) dece u mlađoj uzrastnoj grupi imalo kasnoinspirijumske pukote, dok 4 (66,7%) dece nije. U grupi dece uzrasta pet do 15 godina, 6 (33,3%) dece je imalo kasnoinspirijumske pukote, a 12 (66,7%) dece nije. Navedena razlika u učestalosti kasnoinspirijumskih pukota pri auskultaciji pluća kod dece sa MP pneumonijom koja su bila uzrasta mlađeg od pet godina i uzrasta od pet do 15 godina nije bila statistički značajna ($p=0,606$; $p>0,05$).

4.8.6. Laboratorijski nalazi kod dece sa pneumonijom uzrokovanom bakterijom *Mycoplasma pneumoniae*

Kod dece sa MP pneumonijom uzrasta do pet godina i dece uzrasta pet do 15 godina analizirali smo i uporedili vrednosti hematoloških i biohemijskih parametara.

4.8.6.1. Lekociti kod dece sa pneumonijom uzrokovanom bakterijom *Mycoplasma pneumoniae*

U grupi dece sa MP pneumonijom koja su bila uzrasta mlađeg od pet godina, 4 (66,7%) dece je imalo normalan broj leukocita za uzrast, nijedno dete nije imalo leukopeniju, a 2 (33,3%) dece je imalo leukocitozu. U grupi dece sa MP pneumonijom koja su bila starijeg uzrasta, 10 (55,6%) dece imalo je normalan broj leukocita, 2 (11,1) dece je imalo snižen, a 6 (33,3) dece povišen broj leukocita, međutim pomenuta razlika nije dostigla statističku značajnost ($p=0,683$; $p>0,05$).

Kada smo kod dece sa MP pneumonijom analizirali ukupan broj leukocita, utvrdili smo da je kod dece mlađeg uzrasta, prosečna vrednost leukocita iznosila $15,233 \pm 2,230 \cdot 10^9/L$, dok su deca koja su bili uzrasta pet do 15 godina, imala prosečan broj leukocita od $12,522 \pm 2,127 \cdot 10^9/L$, ali ova razlika nije bila statistički značajna ($p=0,251$; $p>0,05$).

Analizirajući leukocitarnu formulu kod dece sa MP pneumonijom došli smo do sledećih rezultata. Deca uzrasta do pet godina su u proseku imala $54,33 \pm 9,84\%$ granulocita, dok su dece starije uzrastne grupe prosečno imala $74,37 \pm 3,56\%$ granulocita, pri čemu je ova razlika bila statistički značajna ($p=0,047$; $p<0,05$). Utvrdili smo da su dece uzrasta mlađeg od pet godina u proseku imala $38,30 \pm 8,95\%$ limfocita, a dece koji su bili uzrasta pet do 15 godina u proseku $19,27 \pm 3,03\%$ limfocita, a navedena razlika je takođe bila statistički značajna ($p=0,047$; $p<0,05$). Kod dece u mlađoj uzrastnoj grupi, monociti su u proseku bili $7,03 \pm 1,07\%$, a kod dece u starijoj uzrastnoj grupi $5,42 \pm 0,87\%$, ali ova razlika nije dostigla statističku značajnost ($p=0,156$; $p>0,05$).

4.8.6.2. Trombociti kod dece sa pneumonijom uzrokovanom bakterijom *Mycoplasma pneumoniae*

Svih 6 dece sa MP pneumonijom koji su bili mlađi od pet godina, imali su normalan broj trombocita. U grupi dece sa MP pneumonijom koja su imala od pet do 15 godina, 14 (77,8%) dece imalo je normalan broj trombocita, 2 (11,1) dece imalo je trombocitopeniju i 2 (11,1) dece trombocitozu, te nije zabeležena statistički značajna razlika ($p=0,449$; $p>0,05$).

Zatim smo analizirali broj trombocita kod dece sa MP pneumonijom i utvrdili da su deca uzrasta mlađeg od pet godina prosečno imala $345,33 \pm 33,054 \cdot 10^9/L$ trombocita, dok su deca starijeg uzrasta u proseku imala $258,22 \pm 26,09 \cdot 10^9/L$ trombocita, a ova razlika je bila statistički značajna ($p=0,047$; $p<0,05$).

4.8.6.3. Eritrociti kod dece sa pneumonijom uzrokovanom bakterijom *Mycoplasma pneumoniae*

Deca sa MP pneumonijom u mlađoj uzrastnoj grupi, su prosečnu imala $4,046 \pm 0,229 \cdot 10^{12}/L$ eritrocita, dok su deca sa MP pneumonijom koja su bila uzrasta od pet do 15 godina u proseku imala $4,727 \pm 0,11 \cdot 10^{12}/L$ eritrocita, što je bilo bez statistički značajne razlike ($p=0,156$; $p>0,05$).

Kod dece sa MP pneumonijom koja su imala manje od pet godina, prosečna vrednost hemoglobina je iznosila $99,00 \pm 7,30$ g/L, dok je kod dece sa MP pneumonijom koja su imala od pet do 15 godina, prosečna vrednost hemoglobina bila $135,778 \pm 3,32$ g/L, a ova razlika je bila visoko statistički značajna ($p=0,001$; $p<0,01$).

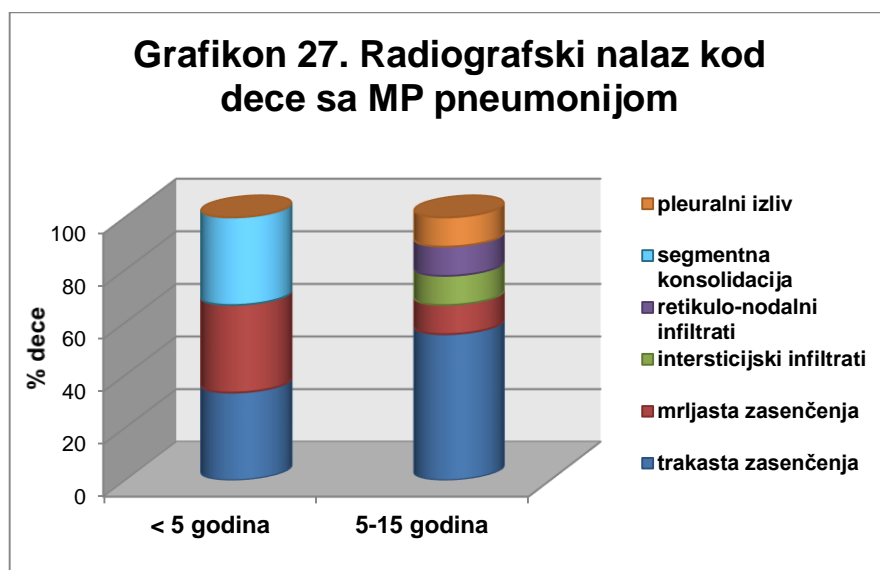
4.8.6.3. C reaktivni protein kod dece sa pneumonijom uzrokovanom bakterijom *Mycoplasma pneumoniae*

Svih 6 dece sa MP pneumonijom uzrasta mlađeg od pet godina imalo je povišen CRP. U grupi dece sa MP pneumonijom koja su bila starijeg uzrasta, 16 (88,9%) dece je imalo povišen CRP, dok 2 (11,1) dece nije, ali ova razlika nije bila statistički značajna ($p=0,394$; $p>0,05$).

Kada smo analizirali vrednost CRP kod dece sa MP pneumonijom, utvrdili smo da je kod dece mlađe uzrastne grupe, prosečna vrednost CRP iznosila $99,333 \pm 46,403$ mg/L, dok su deca koja su imala pet do 15 godina imala prosečan CRP od $35,889 \pm 8,995$ mg/L, ali ova razlika nije dostigla statističku značajnost ($p=0,090$; $p>0,05$).

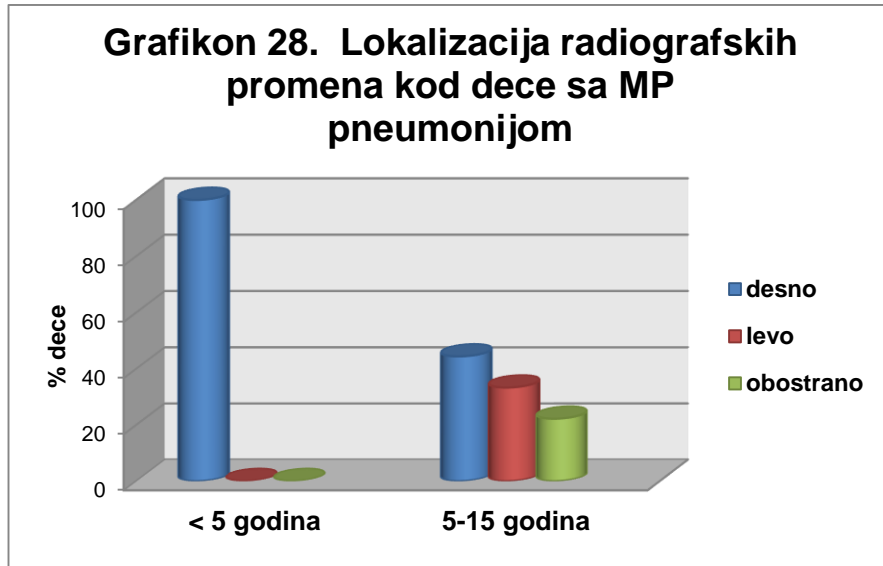
4.8.7. Radiografski nalaz kod dece sa pneumonijom uzrokovanom bakterijom *Mycoplasma pneumoniae*

Analizirajući radiografski nalaz kod dece sa MP pneumonijom zabeležili smo sledeće rezultate. U grupi dece koja su bila uzrasta mlađeg od pet godina, 2 (33,3%) dece je imalo traksta zasenčenja, 2 (33,3%) dece mrljasta zanečenja, 2 (33,3%) dece segmentu ili lobarnu konsolidaciju, a nijedno dete nije imalo intersticijska zasenčenja, retikulo-nodalne infiltrate i pleuralni izliv. Kod dece koja su pripadala starijoj uzrastnoj grupi, 10 (55,5%) dece je imalo trakasta zasenčenja, 2 (11,1%) dece mrljasta zasenčenja, 2 (11,1%) dece intersticijska zasenčenja, 2 (11,1%) dece retikulo-nodalne infiltrate, 2 (11,1%) dece pleuralni izli, a nijedno dete nije imalo segmentu ili lobarnu konsolidaciju. Navedena razlika u radiografskom nalazu kod dece sa MP pneumonijom koja su bila uzrasta do pet godina i dece koja su bila uzrasta pet do 15 godina nije bila statistički značajna ($p=0,602$; $p<0,05$) (Grafikon 27).



Daljom analizom utvrdili smo da su u mlađoj uzrastnoj grupi sva deca imala radiografske promene sa desne strane, dok su u starijoj uzrastnoj grupi kod 8 (44,4%) dece radiografske promene su bile lokalizovane sa desne strane, kod 6 (33,3%) dece sa leve

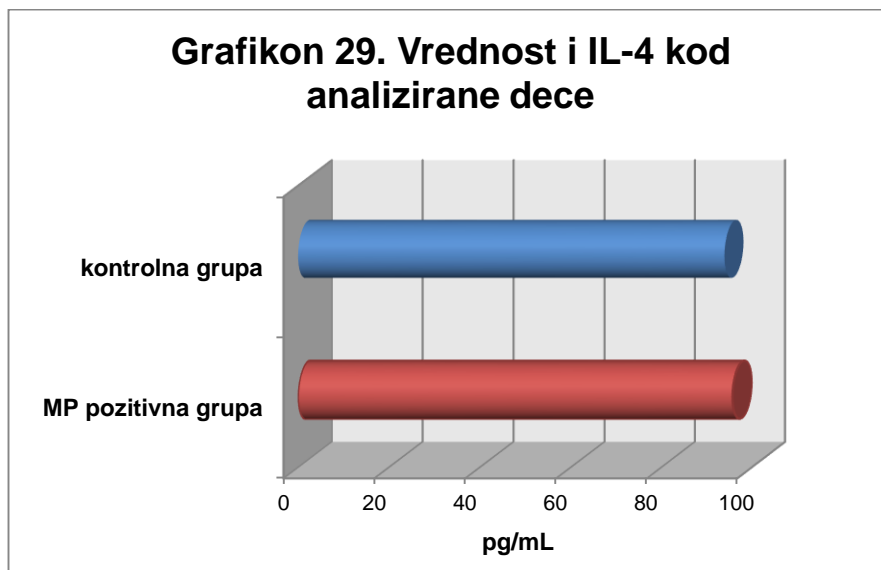
strane i kod 4 (22,2%) dece obostrano. Ova razlika u lokalizaciji radiografskih promena je bila sa samoj granici statističke značajnosti ($p=0,057$; $p>0,05$) (Grafikon 28).



4.9. Serumske vrednosti Interleukina-4 kod ispitivane dece

U toku ovog istraživanja kod dece uključene u studiju odredili smo i analizirali vrednosti IL-4 u krvi, kako bi utvrdili da li postoji značajna udruženost između nivoa IL-4 u krvi i MP infekcije.

Kod dece MP pozitivne grupe, vrednost IL-4 su se kretala od 81-128 pg/mL sa prosečnom vrednošću od $95,75 \pm 14,821$ pg/mL, dok je kod dece kontrolne grupe prosečna vrednost IL-4 bila $93,96 \pm 13,567$ pg/mL, sa varijacijama u opsegu od 80-134 pg/mL, ali ove razlike nisu bile statistički značajne ($p=0,460$; $p>0,05$) (Grafikon 29).

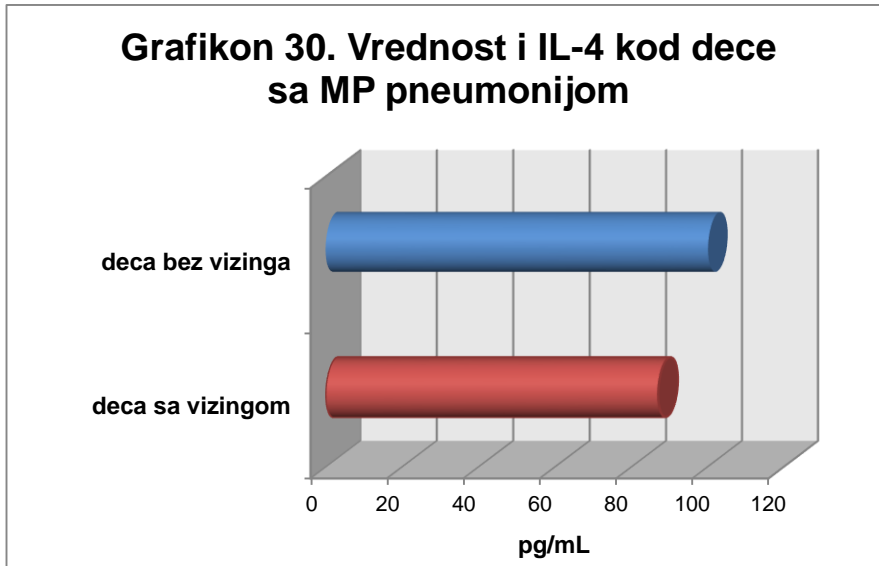


S obzirom da atopijski status može uticati na vrednosti IL-4, posebno smo analizirali vrednosti IL-4 kod dece MP pozitivne grupe u odnosu na prisustvo atopije. Atopičari su u MP pozitivnoj grupi imali prosečnu vrednost IL-4 od $93,50 \pm 15,692$ pg/mL, sa varijacijama u opsegu od 84-129 pg/mL, dok se kod dece iste grupe koja nemaju atopiju vrednost IL-4 kretala od 82-130 pg/mL sa prosečnom vrednošću od $95,93 \pm 17,376$ pg/mL, ali navedene razlike nisu bile statistički značajne ($p=0,931$; $p>0,05$).

Deca MP pozitivne grupe sa alergijom i/ili astmom u porodici, imala su prosečnu vrednost IL-4 od $101,50 \pm 15,684$ pg/mL, sa varijacijama u opsegu od 87-124 pg/mL, dok se kod dece MP pozitivne grupe koja nisu imala alergiju i/ili astmu u porodici, vrednost IL-4 kretala od 81-129 pg/mL sa prosečnom vrednošću od $92,88 \pm 13,985$ pg/mL, ali navedene razlike nisu dostigle statističku značajnost ($p=0,192$; $p>0,05$).

I na kraju smo analizirali vrednosti IL-4 kod dece MP pozitivne grupe u odnosu na prisustvo vizinga. Kod dece MP pozitivne grupe koja su imala vizing, vrednost IL-4 se kretala od 81 do 90 pg/mL sa prosečnom vrednošću od $87,00 \pm 3,780$ pg/mL, dok je kod dece koji nisu imala vizing prosečna vrednost IL-4 iznosila $100,13 \pm 16,399$ pg/mL, sa varijacijama u opsegu od 87 do 128 pg/mL. Razlike u vrednosti IL-4 kod dece MP

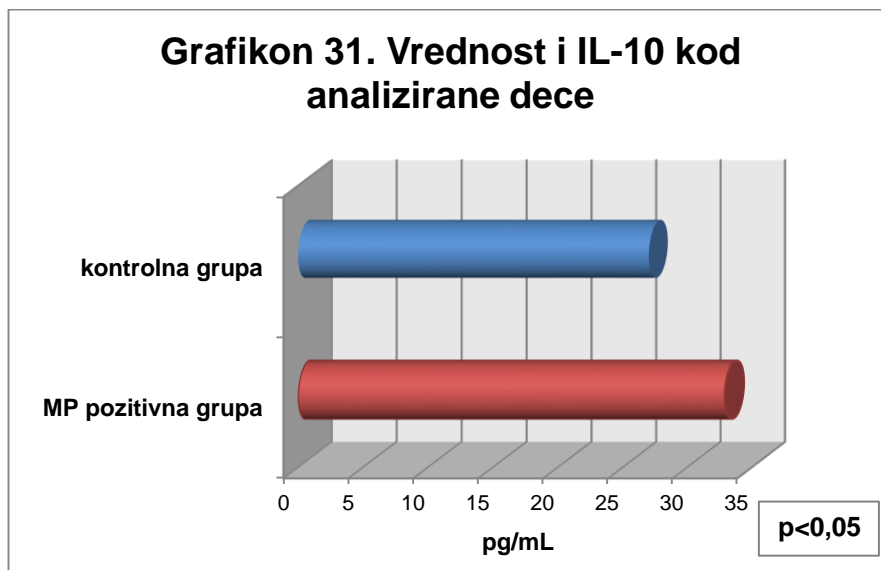
pozitivne grupe koja su imali vizing i dece koja nisu imali vizing nisu bile statistički značajne ($p=0,052$; $p>0,05$) (Grafikon 30).



4.10. Serumske vrednosti Interleukina-10 kod ispitivane dece

Takođe smo odredili smo i analizirali vrednosti IL-10 u krvi kod dece koja su bila uključeni u ovo istraživanje.

Deca MP pozitivne grupe imala su prosečnu vrednost IL-10 od $32,92 \pm 18,582$ pg/mL, sa varijacijama u opsegu od 18-85 pg/mL, dok se kod dece kontrolne grupe vrednost IL-10 kretala od 10-85 pg/mL, sa prosečnom vrednošću od $27,01 \pm 14,100$ pg/mL, a navedena razlika je bila statistički značajna ($p=0,022$; $p<0,05$). Deca u MP pozitivnoj grupi imala su značajno više vrednosti IL-10 u odnosu na decu kontrolne grupe (Grafikon 31).

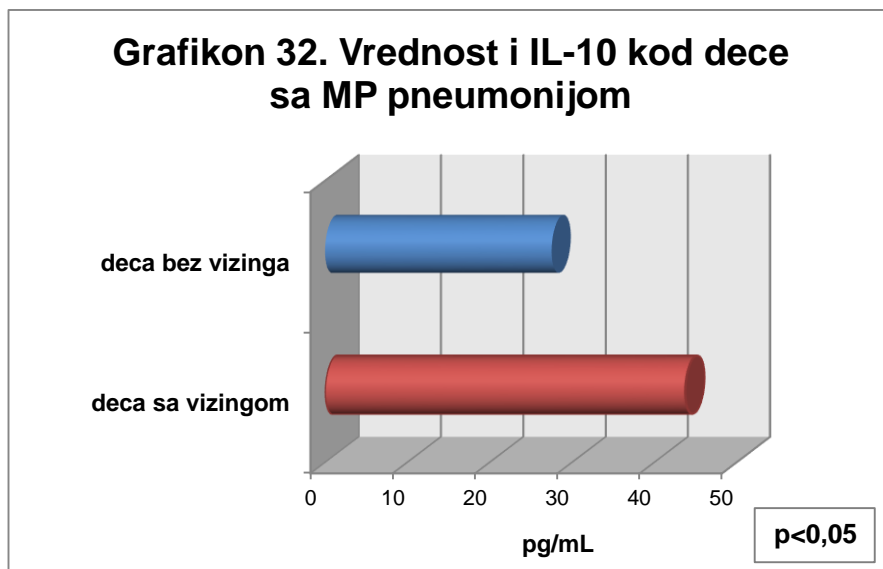


Pored toga, odvojeno smo analizirali vrednosti IL-10 kod dece MP pozitivne grupe koja su imala atopiju i kod dece bez atopije. Kod atopičara, vrednost IL-10 su se kretala od 23-85 pg/mL, sa prosečnom vrednošću od $37,67 \pm 23,125$ pg/mL, dok je kod dece koja nemaju atopiju prosečna vrednost IL-4 bila $28,17 \pm 11,746$ pg/mL, sa varijacijama u opsegu od 18-48 pg/mL, ali ove razlike nisu dostigle statističku značajnost ($p=0,052$; $p>0,05$).

Deca MP pozitivne grupe sa alergijom i/ili astmom u porodici, imala su prosečnu vrednost IL-10 od $23,75 \pm 3,059$ pg/mL, sa varijacijama u opsegu od 20-28 pg/mL, dok se kod dece MP pozitivne grupe koja nisu imala alergiju i/ili astmu u porodici, vrednost IL-10 kretala od 18-85 pg/mL, sa prosečnom vrednošću od $37,50 \pm 21,398$ pg/mL, ali navedene razlike nisu dostigle statističku značajnost ($p=0,238$; $p>0,05$).

I u ovom slučaju analizirali smo vrednosti IL-10 kod dece MP pozitivne grupe u odnosu na prisustvo vizinga. Kod dece MP pozitivne grupe koja su imala vizing vrednost IL-10 se kretala od 24 do 85 pg/mL, sa prosečnom vrednošću od $43,75 \pm 26,644$ pg/mL, dok je kod dece koja nisu imala vizing prosečna vrednost IL-10 iznosila $27,50 \pm 10,211$ pg/mL, sa varijacijama u opsegu od 18 do 48 pg/mL. Dobijene razlike u vrednostima IL-10 kod

dece MP pozitivne grupe koja su imala vizing i dece koja nisu imala vizing je bila su statistički značajne ($p=0,027$; $p<0,05$) (Grafikon 32).



S obzirom na anti-inflamatornu ulogu IL-10, kod dece sa MP pneumonijom analizirali smo korelaciju između vrednosti IL-10 u krvi i visine i dužine trajanja temperature, dužine hospitalizacije, osnovnih laboratorijskih analiza i radiološkog nalaza.

Nije nađena statistički značajna korelacije između vrednosti IL-10 u krvi kod dece sa MP pneumonijom i najviše vrednosti temperature ($r= 0,079$; $p=0,713$; $p>0,05$).

Kod dece sa MP infekcijom, zabeležili smo negativnu korelaciju između vrednosti IL-10 u krvi i broja leukocita u krvi ($r= - 0,182$), ali ona nije dostigla statističku značajnost ($p=0,393$; $p>0,05$).

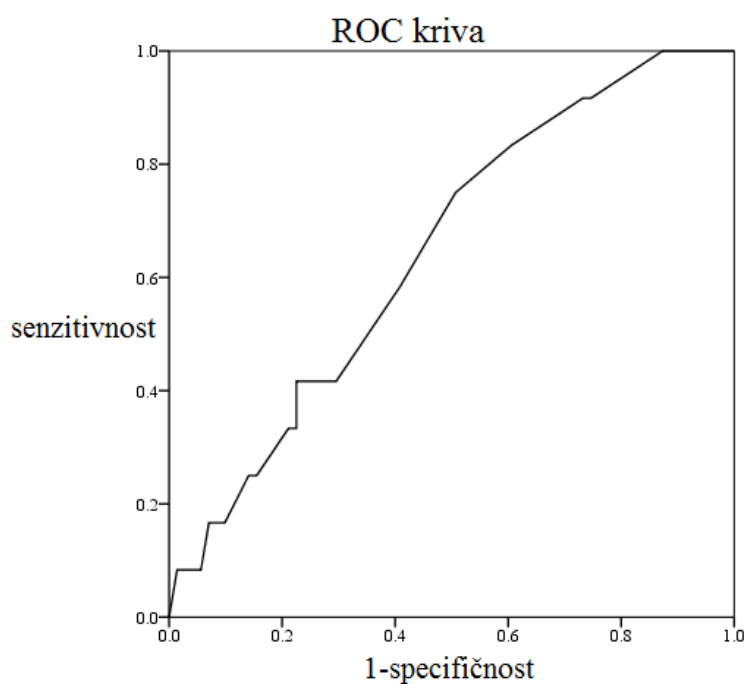
Kod dece sa MP pneumonijom, zabeležena je negativna korelacija između vrednosti IL-10 u krvi i vrednosti CRP, ali ona nije bila statistički značajna ($r= - 0,256$; $p=0,227$; $p>0,05$)

Nije nađena statistički značajna korelacije između vrednosti IL-10 u krvi i radiografskog nalaza kod dece sa MP pneumonijom ($r= 0,051$; $p=0,212$; $p>0,05$).

Kod dece sa MP infekcijom, dobijena je visoko statistički značajna negativna korelacija između vrednosti IL-10 u krvi i dužine trajanja povišene temperature ($r = -0,543$; $p = 0,006$; $p < 0,01$.) Što su bile više vrednosti IL-10 u krvi, povišena temperatura je kraće trajala.

Kod dece sa MP pneumonijom nije nađena statistički značajna korelacije između vrednosti IL-10 u krvi i dužine trajanja hospitalizacije ($r = 0,221$; $p = 0,299$; $p > 0,05$)

Potom smo koristeći dobijene vrednosti IL-10 u krvi dece sa MP pneumonijom, konstruisali ROC krivu (Receiver operating characteristic curve). Pomoću ove krive određena je graničnu vrednost IL-10 od 23,50 pg/mL, koja ima senzitivnost 58,3% i specifičnost 59,2%, 95% interval poverenjaj 0,537-0,754 i površinu ispod ROC krive (AUC) 0,646.

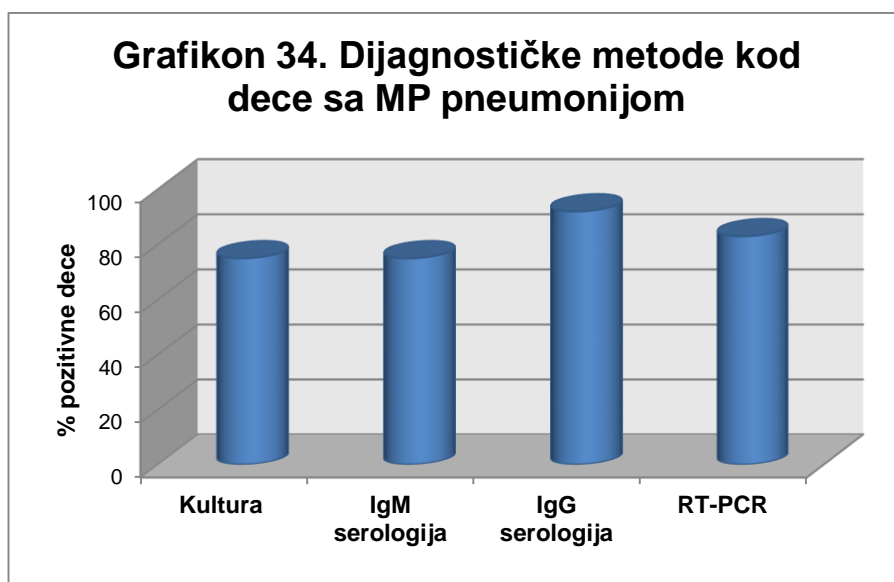


Grafikon 33. ROC kriva (Receiver operating characteristic curve) sa serumskim vrednostima IL-10

4.11. Dijagnostičke metode

Na kraju ovog istraživanja analizirali smo metode koje su korišćene u dijagnostici MP pneumonije.

Od 24 dece sa MP pneumonijom, kod 18 (75,0%) dece MP infekcija je potvrđena istovremeno serologijom, RT-PCR metodom i metodom kultivisanja. Kod 4 (16,7%) dece dijagnoza je postavljena samo serološkim metodama, dok je 2 (8,3%) dece imalo pozitivnu samo RT-PCR metodu (Grafikon 35).



Od ukupno 22 dece koja su imala pozitivnu serologiju na MP, 18 (81,8%) dece je imalo specifičan IgM odgovor na MP u serumu uzetom u akutnoj fazi bolesti, prosečno $8,7 \pm 4,8$ dana od početka bolesti. Svih 22 dece sa pozitivnom serološkom metodom imalo je najmanje četverostruki porast titra IgG antitela u serumu uzetom u kovalescentnoj fazi bolesti.

Dvadesetoro dece je imalo pozitivan RT-PCR na MP. Ova metoda je bila pozitivna kod 81,82% serološki pozitivne dece. Kod dece koja su imala pozitivan RT-PCR, bris ždrebla za detekciju MP prosečno je uzet $7,8 \pm 5,2$ dana od početka bolesti.

4.11.1 Analiza osetljivosti i specifičnosti dignostičkih metoda

Potom smo uporedno analizirali osetljivost i specifičnost RT-PCR metode, seroloških metode i metode kultivisanja bakterija u dijagnostici pneumonije uzrokovane MP.

Posmatrajući IgG serološku metodu (namanje četverostruki porast titra IgG antitela) u pranom serumu kao referentni metod (zlatni standard), utvrdili smo da IgM serološka metoda u serumu u akutnoj fazi bolesti ima osetljivost 81,82% i specifičnost 100% (Tabela 1).

Poređenjem IgG serološke metode u parnom serumu kao referentne metode sa RT-PCR metodom, utvrdili smo da RT-PCR metoda ima osetljivost 81,82% i specifičnost 98,61% (Tabela 1).

Slični rezultati su dobijeni i kada je analizirana metoda kultivisanja u odnosu na IgG serologiju u parnom serumu. Utvrđeno je da ova metoda ima osetljivost 81,82% i specifičnost 100% (Tabela 1).

Tabela 1. Poređenje dijagnostičkih metoda sa najmanje četverostrukim porastom titra IgG antitela u parnom serumu kao zlatnim standardom.

	Senzitivnost (%)	Specifičnost (%)	PPV (%)	NPV (%)	PLR
Serologija (IgM antitela)	81,82	100,00	100,00	97,30	
RT-PCR	81,82	98,61	90,00	97,26	58,91
Kultura	81,82	100,00	100,00	97,30	

RT-PCR-real-time reakcija lančane polimerizacije, PPV-pozitivna prediktivna vrednost, NPV-negativna prediktivna vrednost, PLR-pozitivan odnos izglednosti.

Međutim, kada smo RT-PCR metodu uzeli kao zlatni standard, utvrdili smo da IgM serološka metoda u serumu u akutnoj fazi bolesti ima osetljivost 80% i specifičnost 98,63% (Tabela 2).

Poređenjem RT-PCR metode kao referentne metode sa IgG serološkom metodom u parnom serumu, utvrdili smo da ova serološka metoda ima osetljivost i specifičnost 90,00% i 97,26% (Tabela 2).

Analizom metode kultvisanja u odnosu na RT-PCR metodu dobijene su vrednosti osetljivosti od 90% i specifičnosti od 100% (Tabela 2).

Tabela 2. Poređenje dijagnostičkih metoda sa real-time reakcijom lančane polimerizacije kao zlatnim standardom.

	Senzitivnost (%)	Specifičnost (%)	PPV (%)	NPV (%)	PLR
Serologija (IgM antitela)	80,00	98,63	88,89	97,30	58,40
Serologija (IgG antitela)	90,00	97,26	81,82	98,61	32,85
Kultura	90,00	100,00	100,00	98,65	

RT-PCR-real-time reakcija lančane polimerizacije, PPV-pozitivna prediktivna vrednost, NPV-negativna prediktivna vrednost, PLR-pozitivan odnos izglednosti.

I na kraju smo utvrdili da je kombinacijom dve metode, IgM serološke metode u serumu u akutnoj fazi bolesti i RT-PCR, dijagnostikovano čak 22 (91,7%) od ukupno 24 dece sa MP pneumonijom.



5. DISKUSIJA

U ovoj studiji procenjena je proporcija pneumonije uzrokovane MP kod dece uzrasta do 15 godina i analizirane su kliničke, laboratorijske, radiografske karakteristike MP pneumonije. Pored toga, kod dece sa MP pneumonijom određen je nivo IL-4 i IL-10 u krvi i analizirana je senzitivnost i specifičnost tri metode u dijagnostikovanju MP pneumonije - serološke metode, RT-PCR metode i metode kultivisanja bakterija.

5.1. Demografske i kliničke karakteristike

Analizirajući svu decu koja su bila uključena u istraživanje, utvrdili sam da nije postojala statistički značajna razlika u distribuciji dece prema polu i uzrastu. Prosečan uzrast dece u ovoj studiji bio je sličan kao u drugim studijama u kojima su ispitivane kliničke karakteristike pneumonije uzrokovane MP (37,141).

U toku ovog istraživanja utvrdili smo da je MP bila uzročnik pneumonije kod 14,5% pedijatrijskih bolesnika. Slični rezultati dobijeni su i u bolničkim istraživanjima sprovedenim u drugim Evropskim zemljama. U studiji koja je sprovedena u Finskoj, 9,0% svih pneumonija kod dece bilo je uzrokovano MP (109). U Poljskoj je MP infekcija utvrđena kod 11% dece sa pneumonijom (142). Istraživanje sprovedeno u Hrvatskoj je takođe pokazalo, da je MP bila uzročnik pneumonije kod 11% bolesnika (143). U Italijanskoj studiji MP infekcija je dokazana kod 12% dece sa infekcijom donjih disajnih puteva (144). Švajcarska studija je utvrdila da je 13% pneumonija kod pedijatrijskih bolesnika bilo uzrokovano MP (145). Do istog zaključka došli su i Grčki autori koji su naveli da je MP izolovana kod 13% dece sa pneumonijom (146).

Suprotno tome, bolnička istraživanja sprovedena u Aziji su pokazala veću učestalost MP pneumonije. Studija iz Kine je pokazala da je MP bila uzročnik pneumonije kod 32% pedijatrijskih bolesnika (147). U studiji sprovedenoj na Tajlandu, MP infekcija je dokazana kod 25% dece sa teškom pneumonijom (148). Autori iz Indije su utvrdili da je

24% infekcija donjih disajnih puteva kod pedijatrijskih bolesnika bilo uzrokovano MP (149).

Međutim, poređenje sa rezultatima drugih studija je teško, kako zbog razlika u epidemioškim uslovima, tako i zbog razlika u populaciji koja je ispitivana (hospitalizovani ili ambulantni bolesnici, različit uzrast bolesnika). Pored toga, različiti klinički uzorci, dijagnostičke metode i dijagnostički kriterijumi koji su korišćeni u studijama dodatno otežavaju poređenje rezultata.

Dobijeni rezultati u našoj studiji pokazuju da je tri četvrtine dece sa MP pneumonijom bilo uzrasta pet do 15 godina. Autori drugih studija su takođe prikazali da je pneumonija uzrokovana MP češća kod dece uzrasta starijeg od pet godina u odnosu na decu mlađeg uzrasta (109, 144, 146, 150). U našoj studiji, 25% dece sa MP infekcijom bilo je uzrasta mlađeg od pet godina, što ukazuje na značajnu zastupljenost MP kao uzročnika pneumonije i kod dece mlađeg uzrasta. Slični rezultati dobijeni su i u studijama drugih autora. Pomenuto istraživanje sprovedeno u Finskoj je pokazalo da je 21% dece sa MP pneumonijom bilo uzrasta mlađeg od pet godina (109). Higashigawa i saradnici su MP infekciju dokazali kod 20% hospitalizovane dece sa pneumonijom mlađe od pet godina (151). Međutim, pojedini autori su zabeležili znatno veću učestalost MP pneumonije kod dece uzrasta mlađeg od pet godina (144, 152).

U ovom istraživanju, utvrdili smo da je infekcija MP bila češća kod dečaka u odnosu na devojčice. Studija Puljiz-a i saradnika koja je obuhvatila i pedijatrijske i adultne bolesnike sa MP pneumonijom, je takođe utvrdila predominaciju bolesnika muškog pola (143). Isti rezultati su navedeni i u ispitivanjima kod adultnih bolesnika sa MP pneumonijom (153). Suprotno tome, brazilski autori su pokazali da se MP pneumonija češće javlja kod devojčica (154). Pojedini autori nisu zabeležili razliku u distribuciji bolesnika prema polu kod bolesnika sa MP infekcijom (149,155).

Deca sa MP pneumonijom u ovoj studiji, bila su značajno starija u odnosu na decu sa pneumonijom koja je uzrokovana drugim mikroorganizmima. Do istog zaključka došli su autori drugih studija (154,155). Navedeni rezultati su u korelaciji sa studijom finskih

autora u kojoj je pokazano da se incidenca MP kao uzročnika pneumonije povećava sa uzrastom bolesnika (47).

Klinička prezentacija dece sa MP pneumonijom u našoj studiji se nije značajno razlikovala u odnosu na druge studije. Deca su prosečno imali simptome sedam dana pre uključenja u studiju, što je u saglasnosti sa studijom Othman-a i saradnika (152). Osamdeset tri procenata dece sa MP infekcijom je imalo povišenu temperaturu. Slični rezultati dobijeni su i u drugim studijama. Hadi i saradnici su utvrdili da je 80% dece sa MP infekcijom donjih disajnih puteva imalo povišenu temperaturu (156). Italijanski autori su proučavajući kliničke karakteristike dece sa MP infekcijom u tri velike studije, pokazali da je 77-86% dece sa MP pneumonijom imalo povišenu temperaturu (37, 144, 157) Kod dece sa MP pneumonijom, povišena temperatura je prosečno trajala pet dana pre uključenja u studiju, što je bilo značajano duže u odnosu na decu sa pneumonijom koja nije uzrokovana MP. Qu i saradnici su takođe utvrdili da je kod adultnih bolesnika sa MP pneumonijom, povišena temperatura trajala duže u poređenju sa bolesnicima sa pneumonijom kod kojih nije izolovana MP (158). Ovo zapažanje moglo bi da se objasni činjenicom da je veliki broj bolesnika sa MP pneumonijom, pre uključenja u studiju lečen beta-laktamskim antibioticima koji nisu efikasni u lečenju MP infekcija.

Dobijeni rezultati u našoj studiji pokazuju da je kašalj bio prisutan kod sve dece sa MP infekcijom. Ista zapažanja imali su i drugi autori koji su analizirali kliničke karakteristike dece sa MP pneumonijom (147, 156, 159). Puljiz i saradnici su proučavajući pedijatrijske i adultne bolesnike, naveli da je 97% bolesnika sa MP pneumonijom imalo kašalj (143). Hsieh i saradnici su kod 95% dece sa MP pneumonijom opisali kašalj (160). Kod dece sa MP pneumonijom u našoj studiji, kašalj je pre uključenja u studiju trajao prosečno sedam dana, što je bilo statistički značajno duže u odnosu na decu sa pneumonijom uzrokovanu drugim mikroorganizmima. U dostupnoj literaturi nema podataka o dužini trajanja kašlja, kako ni kod pedijatrijskih, tako ni kod adultnih bolesnika sa MP infekcijom.

Glavobolju je u našoj studiji imala jedna četvrtina dece sa pneumonijom uzrokovanom MP. Dobijeni rezultati su u korelaciji sa studijom Liu-a i saradnika, koji su pokazali da je 21% dece sa MP pneumonijom imalo glavobolju (147). Puljiz i saradnici su utvrdili da je čak polovina bolesnika sa MP pneumonijom imala glavobolju (143). Međutim, u ovo istraživanje bili su uključeni adultni i pedijatrijski bolesnici uzrasta preko sedam godina, što bi moglo da objasni veću učestalost glavobolje u poređenju sa rezultatima dobijenim u našoj studiji.

Simptomi infekcije gornjih disajnih puteva bili su prisutni kod 17% dece sa MP pneumonijom. Slični rezultati dobijeni su i u drugim studijama. Italijanska studija je pokazala da je 15% dece sa MP pneumonijom imalo simptome infekcije gornjih disajnih puteva (37). Kashyap i saradnici su utvrdili prisustvo ovih simptoma kod 21% pedijatrijskih bolesnika sa MP pneumonijom (149). Vervloet i saradnici su naveli da je 22% dece sa pneumonijom uzrokovanom MP imalo navedene respiratorne simptome (154).

Gastrointestinalne tegobe u vidu povraćanja je u našoj studiji imalo 17% dece, a isto toliko dece imalo je i bolove u stomaku, što je u saglasnosti sa rezultatima drugih autora. Defilippi i saradnici su naveli da je 15% dece sa MP pneumonijom imalo tegobe u vidu povraćanja (144). Vervloet i saradnici su pokazali da je 13% pedijatrijskih bolesnika sa pneumonijom uzrokovanom MP imalo bolove u stomaku (154).

Osam procenata dece sa MP infekcijom u našoj studiji imalo je samo tahipneju, dok je kod 8% dece tahipneja bila praćena i dispnejom. Italijanski autori Esposito i saradnici su naveli da je 11% dece sa MP infekcijom imalo tahipneju (157). Druga italijanska studija je pokazala da je kod 15% pedijatrijskih bolesnika sa MP pneumonijom bila prisutna tahipneja (37).

Jedna trećina dece sa MP pneumonijom je u našem istraživanju imala vizing. Pojedini autori su naveli nižu učestalost vizinga kod pedijatrijskih bolesnika sa MP pneumonijom. Esposito i saradnici su opisali da je 15% dece sa MP infekcijom imalo vizing (157). Lochindarat i saradnici su utvrdili da je vizing bio prisutan kod 16% dece sa atipičnom pneumonijom (155). Autori iz Indije su naveli da je 21% dece sa MP infekcijom

donjih disajnih puteva imalo vizing (154). Sa druge strane, u literaturi se navodi i veća učestalost vizinga u odnosu na rezultate dobijene u našoj studiji. Samransamruajkit i saradnici su naveli da je 38% dece sa MP pneumonijom imalo vizing (154). Madani i saradnici su su utvrdili da je vizing bio prisutan kod 40% bolesnika sa MP pneumonijom (161). Othman i saradnici su opisali da je vizing bio prisutan kod 43% dece sa MP pneumonijom uzrasta mlađeg od pet godina (152).

Dobijeni rezultati u našoj studiji pokazuju da 33% dece pri auskultaciji pluća imalo kasnoinspirijumske pukote, a od toga kod 8% dece pukoti su bili udruženi sa vizingom. Slično našim rezultatima, Hadi i saradnici su naveli da je 30% dece sa MP pneumonijom imalo kasnoinspirijumske pukote (156). Međutim, Kashyap i saradnici su utvrdili prisustvo kasnoinspirijumskih pukota kod svega 19% bolesnika (149), dok su drugi autori naveli da je više od polovine bolesnika sa MP pneumonijom imalo kasnoinspirijumske pukote (148).

Poređenjem kliničkih karakteristika između dece sa MP pneumonijom i pneumonijom uzrokovanom drugim mikroorganizmima, utvrdili smo da su kašalj, glavobolja i vizing češće bili prisutni kod dece sa MP pneumonijom. I drugi autori imali su slična zapažanja. Sidal i saradnici su u istraživanju sprovedenom u Turskoj pokazali da se kašalj češće javlja kod pedijatrijskih bolesnika sa MP infekcijom (150). Studija iz Brazila je takođe utvrdila veću učestalost kašlja kod dece sa MP pneumonijom (154).

Na veću učestalost vizinga kod dece sa MP pneumonijom u našoj studiji mogla je da utiče činjenica da je polovina dece sa MP pneumonijom imala atopiju i/ili astmu. Preciznije, sva deca sa MP infekcijom i vizingom imala su atopiju ili astmu u ličnoj anamnezi. Međutim i deca sa pneumonijom koja nije uzrokovana MP, su imala visoku učestalost atopije i /ili astme i pri tome nije utvrđena značajna razlika u učestalosti ovih bolesti kod ove dve grupe dece. Takođe, nismo zabeležili ni razliku u prisustvu alergije i/ili astme u porodici kod dece sa MP pneumonijom i dece sa pneumonijom koja nije uzrokovana MP.

Daljom analizom demografskih i kliničkih karakteristika koje su značajno češće bile prisutne dece sa MP pneumonijom, utvrdili smo statistički značajnu udruženost između MP pneumonije i glavobolje, vizinga, muškog pola i uzrasta preko 5 godina. Slična su bila zapažanja i drugih autora. Italijanska studija Esposito-a i saradnika je pokazala značajanu udruženost između vizinga i MP infekcije kod dece starijih od pet godina (162).

Polovina naših ispitanika sa MP infekcijom je pre uključenja u studiju lečena beta-laktamskim antibioticima, što je u korelaciji sa studijom Othman-a i saradnika koju su naveli da je 58% dece sa MP pneumonijom prethodno lečeno antibioticima (152).

5.2. Laboratorijske i radiografske karakteristike

Jedna trećina dece sa MP pneumonijom u ovom istraživanju imala je leukocitozu prilagođenu za uzrast bolesnika. Stevens i saradnici su takođe utvrdili leukocitozu kod jedne trećine bolesnika sa MP pneumonijom (56). Slična su bila zapažanja i grčkih autora, koji su opisali leukocitozu kod 40% dece sa MP infekcijom (146). Osam procenata dece sa MP pneumonijom je u našoj studiji imalo trombocitozu, dok su pojedini autori utvrdili i veću učestalost trombocitoze kod dece sa MP infekcijom (144,147,15). Kod 92% dece sa MP pneumonijom u ovoj studiji, zabeležene su povišene vrednosti CRP. U pomenutoj grčkoj studiji 80% dece sa MP infekcijom imalo je povišene vrednosti CRP (146). Hsieh i saradnici su opisali povišene vrednosti CRP kod 72% dece sa MP pneumonijom (160).

U ovoj studiji nismo zabeležili značajnu razliku u ukupnom broju leukocita, leukocitarnoj formuli i broju trombocita i eritocita kod dece sa MP pneumonijom i dece sa pneumonijom koja nije uzrokovana MP. Takođe, nismo utvrdili ni značajnu razliku u vrednostima CRP, sedimentaciji eritrocita i drugim biohemijskim nalazima kod dece ove dve grupe. Dobijeni rezultati u našoj studiji pokazuju, da na osnovu rutinskih laboratorijskih nalaza nije moguće razlikovati pneumoniju uzrokovanu MP od pneumonije uzrokovane drugim mikroorganizmima. Do istog zaključka došli su i mnogobrojni drugi autori (37,146,156,157,158).

Analizirajući radiografski nalaz kod dece sa MP pneumonijom, utvrdili smo da je najveći broj (50%) dece imao trakasta zasenčenja, što je u korelaciji sa studijom Esposito-a i saradnika u kojoj su trakasta zasenčenja takođe bila najčešći (60%) radiografski nalaz (157).

Kod 17% dece sa MP infekcijom na radiografiji pluća opisana su mrljasta zasenčenja. Slično našim rezultatima, Hsieh i saradnici su ovakve promene opisali kod 23% dece (160). Međutim, Lochindarat i saradnici su mrljasta zasenčenja verifikovali kod polovine dece sa atipičnom pneumonijom (155).

Osam procenata dece sa MP infekcijom u našoj studiji imalo je intersticijske infiltrate. Esposito i saradnici su kod 4% dece utvrdili prisustvo intersticijskih infiltrata (157). Ovako mala zastupljenost intersticijskih promena može da se objasni zapažanjem Reittner-a i saradnika. Pomenuti autori su poredili radiografije pluća sa nalazom CT pluća i zaključila su da se intersticijske promene kod MP pneumonije teško prepoznaju na radiografiji pluća, ali da se lako verifikuju na snimcima CT pluća visoke rezolucije (105). Suprotno rezultatima prethodno navedenih studija, Hsieh i saradnici su u svojoj studiji intersticijske promene opisali kod 49% dece sa MP pneumonijom (160).

Retikulo-nodalni infiltrati su u našem istraživanju opisani kod 8% dece sa MP infekcijom. Hsieh i saradnici su isto kao u našoj studiji, ove promene opisali kod 8% dece (160). Esposito i saradnici su retikulo-nodalne promene zabeležili kod čak 40% pedijatrijskih bolesnika (157).

Segmentna ili lobarna konsolidacija je bila prisutna kod kod 8% naših ispitanika sa MP pneumonijom. Iako se ovakve radiografske promene smatraju indikatorom pneumokokne infekcije (163), pojedini autori zabeležili su značajnu učestalost ovakvih promena kod bolesnika sa MP infekcijom. Hsieh i saradnici su utvrdili da je 16% dece imalo ovakvu konsolidaciju na radiografiji pluća (160). Esposito i saradni su segmentnu ili lobarnu konsolidaciju opisali kod 28% dece sa MP infekcijom (157).

Osam procenata dece sa MP pneumonijom u našoj studiji imalo je pleuralni izliv. Slični rezultati dobijeni su i u studiji italijanskih autora koji su pleuralni izliv opisali kod 6% dece (157). Pored toga i drugi podaci iz literature pokazuju da pleuralni izliv može da se javi kod 4-20% bolesnika sa MP infekcijom (80).

Dalje analizirajući radiografski nalaz, utvrdili smo da je najveći broj dece sa MP pneumonijom, njih 83% imao jednostrane radiografske promene, što je u korelaciji sa rezultatima drugih studija (144,147). Obostrane radiografske promene verifikovali smo kod 17% naših ispitanika što je u saglasnosti sa navodima iz literature, prema kojima u oko 20% slučajeva radiografske promene na plućima kod MP infekcije mogu biti obostrane (81).

Dobijeni rezultati u našoj studiji pokazuju da je radiografski nalaz kod dece sa MP pneumonijom varijabilan i nespecifičan. Samim tim, samo na osnovu radiografskog nalaza nije moguće razlikovati pneumoniju uzrokovanu MP od pneumonije uzrokovane drugim mikroorganizmima. Do istog zaključka došli su i autori drugih studija (148,157,160).

5.3. Klinički tok bolesti

Kod 92% naših ispitanika sa MP infekcijom bilo je neophodno bolničko lečenje, što je u korelaciji sa rezultatima drugih autora. Madani i saradnici su utvrdili da je 83% bolesnika sa MP pneumonijom primljeno na bolničko lečenje (161). Lochindarat i saradnici su pokazali da je 84% dece sa atipičnom pneumonijom hospitalizovano (155). Ovako visok procenat dece koja su primljena na bolničko lečenje pokazuje da su deca u našoj studiji imala težu kliničku sliku i teži oblik infekcije. Međutim, najveći broj studija u kojima su analizirane kliničke karakteristike MP pneumonije sproveden je upravo na bolesnicima koji su bili na bolničkom lečenju i samim tim imali teži oblik bolesti (154, 143,146).

Kod dece sa MP pneumonijom povišena temperatura je ukupno trajala šest dana. Slični rezultati dobijeni su i u drugim studijama. Youn i saradnici su zabeležili da je povišena temperatura ukupno trajala pet do šest dana, u zavisnosti od uzrasta dece (164). U

nedavno objavljenom istraživanju Chang i saradnici su utvrdili da je temperatura kod dece sa MP pneumonijom prosečno trajala osam dana (159).

Deca sa MP pneumonijom u našoj studiji su bolnički lečena prosečno sedam dana. Esposito i saradnici su uzvrdili da je kod dece sa MP infekcijom hospitalizacija takođe trajala sedam dana (157). Samransamruajkit i saradnici su pokazali, da su deca sa MP pneumonijom prosečno bila hospitalizovana osam dana. (148).

Podaci iz literature pokazuju da 25% bolesnika sa infekcijom MP može da razvije vanplućne manifestacije bolesti, koje mogu da zahvate sve organe i organske sisteme (1). Međutim, ni kod jednog deteta sa MP pneumonijom u ovom istraživanju, nismo zabeležili vanplućne manifestacije bolesti. Slična zapažanja imali su Hsieh i saradnici, koji takođe, nisu opisali pojavu vanplućnih manifestacija kod dece sa MP infekcijom (160). Svi ispitanici sa pneumonijom uzrokovanom MP imali u dobar ishod bolesti i u potpunosti su se oporavili, što je u korelaciji sa rezultatima drugih autora (147,159,160).

U našoj studiji, utvrdili smo da je svega 58% dece sa MP infekcijom lečeno makrolidima, ali nije zabeležena značajna razlika u kliničkom toku i ishodu bolesti kod dece sa MP infekcijom koja su adekvatno lečeni i kod dece koja nisu. Naime, utvrdili smo da se ukupna dužina trajanja povišene temperature i trajanje hospitalizacije nisu značajno razlikovali kod dece sa MP pneumonijom koja su dobijala makrolide i kod dece koja nisu. Nadal i saradnici su takođe pokazali da se klinički tok bolesti kod dece sa MP pneumonijom lečene antibioticima koji su efikasni protiv MP i dece koji nisu lečena ovim antibioticima nije značajno razlikovao (145). Chang i saradnici su u svom nedavno objavljenom istraživanju pokazali da 11% dece sa MP pneumonijom nije lečeno adekvatnom antibiotskom terapijom, kao i da se dužina trajanja hospitalizacije nije značajno razlikovala kod dece koja su lečena adekvatnom terapijom i dece koji to nisu (159). Do istog zaključka su došli i nemački autori koji su analizirali adultne bolesnike sa MP pneumonijom (165). Ovako dobijeni podaci su u suprotnostima sa studijom sprovedenim srednim prošlog veka, koja je pokazala da antibiotcka terapija kod dece sa MP pneumonijom smanjuje dužinu trajanja bolesti (60). Međutim, nedavno su autori Cochranovog pregled zaključili da još

uvek nema dovoljno dokaza o efikasnosti antibiotika u lečenju infekcija donjih disajnih puteva uzrokovanih MP kod dece (124). Rezultati dobijeni u našoj studiji takođe govore u prilog tome.

5.4. Karakteristike pneumonije uzrokovane bakterijom *Mycoplasma pneumoniae* kod dece uzrasta mlađeg od pet godina i dece uzrasta pet do 15 godina

Kada smo posebno analizirali decu sa MP pneumonijom i uporedili kliničke karakteristike dece uzrasta mlađeg od pet godina i dece uzrasta pet do 15 godina, utvrdili smo da se učestalost povišene temperature, dužina trajanja povišene temperature, učestalost kašlja, bola u grudima, glavobolje i gastrointestinalnih tegoba nisu značajno razlikovale između navedenih grupa. Međutim, utvrdili smo da su deca sa MP pneumonijom uzrasta mlađeg od pet godina češće imala simptome infekcije gornjih disajnih puteva i otežano disanje u odnosu na decu starije uzrastne grupe. Slična zapažanja imali su i drugi autori. Italijanski autori su analizirajući 102 pedijatrijska bolesnika sa MP pneumonijom, zaključili da su se simptomi infekcije gornjih disajnih puteva i otežano disanje češće javljali kod bolesnika mlađih od pet godina (144). Othman i saradnici su takođe opisali veću učestalost simptoma infekcije gornjih disajnih puteva kod dece mlađe od pet godina u odnosu na decu starijeg uzrasta (152). Pored toga, u našem istraživanju smo utvrdili da su deca mlađa od pet godina, češće imala tahipneju, što je u korelaciji sa rezultatima prethodno navedenih studija (144,152). Na ovako dobijene rezultate u našoj studiji, odnosno veću zastupljenost otežanog disanja i tahipneje kod mlađe dece, mogla je da utiče činjenica da su sva deca uzrasta mlađeg od pet godina bila hospitalizovana i verovatno imala teži oblik bolesti. U ovom istraživanju, nismo zabeležili značajnu razliku u auskultatornom nalazu na plućima kod dece sa MP pneumonijom uzrasta mlađeg od pet godina i kod dece uzrasta pet do 15 godina. Učestalost vizinga i kasnoinspirijumskih pukota je kod dece u pomenutim uzrastnim grupama bila slična. Slični rezultati dobijeni su i u studijama autora iz Italije i Australije (144,152).

Analizirajući laboratorijske nalaze, nismo zabeležili značajnu razlike u ukupnom broju leukocita kod dece sa MP pneumonijom koja su bila mlađa od pet godina i kod dece koja su bila uzrasta pet do 15 godina. Do istog zaključka su došli i Defilippi i saradnici u svojoj studiji sprovedenoj u Italiji (144). Međutim, utvrdili smo da su deca mlađeg uzrasta imala veći broj granulocita i niži broj limfocita u poređenju sa starijom decom. Sličnih zapažanja bili su i italijanski autori koji su pored toga opisali, da su deca mlađa od pet godina imala veći broj trombocita u poređenju sa decom starijeg uzrasta, što smo takođe zabeležili i u našoj studiji (144). U ovom istraživanju takođe smo utvrdili smo da su deca mlađa od pet godina imala niže vrednosti hemoglobina u poređenju sa decom starijeg uzrasta. U dostupnoj literaturi nema podataka o vrednostima hemoglobina kod dece ovih uzrastnih grupa, najverovatnije zbog toga što na vrednosti hemoglobina pored infekcije utiču i mnogi drugi faktori.

Kod dece sa MP pneumonijom koja su bila uzrasta mlađeg od pet godina, trakasta zasenčenja, mrljasta zasenčenja i segmentna ili lobarna konsolidacija su bile podjednako zastupljene na radiografiji pluća. S druge strane, više od polovine dece starijeg uzrasta imalo je trakasta zasenčenja, ali ova razlika u radiografskom nalazu kod dece ove dve grupe nije bila značajna. Radiografske karakteristike dece mlađe od pet godina i dece uzrasta pet do 15 godina, su do sada analizirane u malom broju radova i na malom broju ispitanika. Italijanski autori su utvrdili da se segmentna ili lobarna konsolidacija češće javlja kod dece uzrasta pet do 15 godina (144), što je u suprotnostima sa našim rezultatima, posebno imajući u vidu da ni kod jednog deteta starijeg uzrasta nije opisana konsolidacija. Pored toga Defilippi i saradnici su u pomenutoj studiji opisali da deca mlađeg uzrasta češće imaju intersticijske infiltrate (144), što se opet razlikuje u odnosu na naše rezultate, s obzirom da ni jedno dete mlađe od pet godina nije imalo intersticijske promene. Navedeni rezultati potvrđuju varijabilnost radiografskog nalaza kod pedijatrijskih bolesnika sa MP pneumonijom, bez obzira na uzrast bolesnika.

5.5. Vrednosti serumskih citokina kod dece sa pneumonijom uzrokovanom bakterijom *Mycoplasma pneumoniae*

Kod dece uključene u studiju analizirali smo vrednosti serumskog IL-4. Interleukin-4 stvaraju Th2 ćelije, ali mastociti i ćelije prirodne ubice. Stvaranje IL-4 dovodi do skretanja imunskog odgovora ka Th2 odgovoru, koji je dominantan kod atopijskih bolesti kao što su alergijske bolesti i astma. Ovaj interleukin stimuliše aktivaciju B limfocita i stvaranje IgE antitela, a takođe aktivira mastocite i bazofile tokom same alergijske reakcije (166). S obzirom na ulogu MP infekcije u patogenezi astme i nastanku akutne egzacerbacije astme (6,23), analizirali smo vrednosti ovog Th2 citokina kod naših ispitanika. Naime, utvrdili smo da nije bilo značajne razlike u vrednostima IL-4 kod dece sa MP pneumonijom i dece sa pneumonijom koja nije uzrokovana MP. Rezultati in vitro studija u vezi sa sekrecijom IL-4 kod MP infekcije su kontraverzni. Kita i saradnici nisu zabeležili sekreciju IL-4 kod mononuklearnih ćelija periferne krvi pod uticajem MP (167). Pojedini autori su na murinom modelu pokazali da MP infekcija značajno ne povećava ekspresiju gena za IL-4 u plućnom tkivu (168,169). Hardy i saradnici su utvrdili da se koncentracija IL-4 u BAL kod miševa inficiranih MP nije značajno razlikovala u odnosu na zdrave miševe (170). Suprotno tome, Schaffner i saradnici su opisali ekspresiju gena za IL-4 kod limfoblastnih ćelija koje su bile stimulisane MP (171). Hoek i saradnici su utvrdili da MP direktno aktivira mast ćelije glodara, dovodi do sinteze i oslobađanja IL-4 iz mast ćelija (172). Chu i saradnici su na murinom alergijskom modelu pokazali da vreme kada nastane MP infekcija, značajno utiče na sekreciju IL-4. Kada infekcija nastane tri dana pre alergijske senzibilizacije i provokacije, MP infekcija dovodi do smanjenja sekrecije IL-4. Nasuprot tome, kada MP infekcija nastane dva dana posle alergijske provokacije, infekcija MP povećava sekreciju IL-4 (173). Pored toga, Woolard i saradnici su na murinom modelu pokazali da kod MP respiratorne infekcije bronhijalna hiperreaktivnost i bronhoopstrukcija nastaju nezavisno od IL-4 (174).

Različiti rezultati dobijeni su i u kliničkim studijama. Koh i saradnici su utvrdili da su koncentracija IL-4, kao i odnos IL-4 / IFN- γ u BAL značajno viši kod dece sa MP pneumonijom u poređenju sa decom koja imaju pneumokoknu pneumoniju i zdravom decom.

Povišen nivo IL-4 i odnos IL-4 / IFN- γ u BAL kod dece sa MP, odnosno dominacija Th2 citokina prema mišljenju ovih autora stvara povoljne uslove za sintezu IgE antitela. *Mycoplasma pneumoniae* dovodi do destrukcije ćelija respiratorne sluzokože što može olakšati penetraciju alergena u mukozu. Stvaranje ovih citokina uz povećanu ekspoziciju alergenima kod dece sa MP infekcijom, dovodi do nastanka IgE poredovanog imunskog odgovora koji rezultira oslobađanjem hemijskih medijatora koji dovode do bronhospazma, inflamacije u disajnim putevima i bronhijalne hiperreaktivnosti (12).

Slično našim rezultatima, Choi i saradnici nisu utvrdili značajnu razliku u vrednostima IL-4 u krvi kod dece sa MP pneumonijom koji imaju vizing u odnosu na decu sa pneumonijom koja nije uzrokovana MP (175). Michelow i saradnici su analizirajući sekreciju 15 citokina u krvi kod dece sa pneumonijom naveli, da nije bilo značajne razlike u vrednostima IL-4 kod dece sa MP pneumonijom i dece sa pneumonijama uzrokovanom drugim mikroorganizmima (176).

Poređenje naših rezultata sa rezultatima studije Koha i saradnika je otežano zbog činjenice da smo mi određivali koncentraciju IL-4 u krvi, a ne u BAL koji bolje odražava lokalni imunski odgovor u plućima, ali zbog etičkih i tehničkih razloga odlučili smo se za manje invazivnu metodu. S obzirom na ovako različite rezultate pomenutih studija, još uvek nije jasna uloga IL-4 i Th2 imunskog odgovora u patogenezi MP infekcije i u odnosu MP infekcije i astme. Pored toga, pojedini autori ističu značajnu ulogu Th1 citokina i Th1 odgovora u patogenezi infekcije uzrokovane MP (170,177).

Imajući u vidu da je kod atopijskih bolesti dominantan Th2 odgovor, posebno smo analizirali vrednosti IL-4 kao dece sa MP infekcijom koja imaju atopiju i kod dece koja nemaju atopiju. Utvrdili smo da se vrednosti IL-4 nisu značajno razlikovale kod ove dve grupe dece. Takođe, nismo zabeležili razliku u vrednostima IL-4 kod dece sa MP infekcijom koja imaju alergiju i/ili astmu u porodici i kod dece koja nemaju ove bolesti u porodici. Slična su bila zapažanja i Koh i saradnika koji takođe nisu zabeležili značajnu razliku u vrednostima IL-4 kod ove dve grupe dece (12).

S obzirom na udruženost MP infekcije i vizinga, analizirali smo vrednosti IL-4 kod dece sa MP pneumonijom u odnosu na prisustvo vizinga. Deca koja nisu imala vizing, imala su više vrednosti IL-4 u odnosu na decu sa vizingom, ali ova razlika nije dostigla statističku značajnost. Slična su bila zapažanja i drugih autora. Choi i saradnici nisu utvrdili značajnu razliku u vrednostima IL-4 u krvi kod pedijatrijskih bolesnika sa MP pneumonijom i vizingom i dece MP pneumonijom bez vizinga (175). Michelow i saradnici takođe nisu zabeležili značajnu razliku u sekreciji IL-4 kod dece sa MP pneumonijom koja su imala vizing i kod dece koja nisu imala vizing (176). Rezultati naše studije, kao i prethodno navedenih studija pokazuju da IL-4 najverovarnije nema ulogu u nastanku vizinga kod dece sa MP infekcijom. U prilog tome govori i studija Esposito-a i saradnika koja je pokazala da su deca sa MP infekcijom i vizingom imala značajno višu koncentraciju IL-5 u serumu, u poređenju sa decom sa asimptomatskom MP infekcijom i zdravom decom. Pomenuti italijanski autori su zaključili da MP može kod predisponiranih osoba da trigeruje nastanak vizinga preko IL-5 (32).

Pored toga, kod naših ispitanika analizirali smo i vrednosti serumskog IL-10 koji spada u grupu anti-inflamatornih citokina. Interleukin-10 stvaraju Th2 ćelije, a glavne funkcije su mu da suprimira makrofage da stvaraju citokine i da inhibira funkciju makrofaga u aktivaciji T ćelija, smanjujući ekspresiju molekula glavnog histokompatibilnog kompleksa (MHC) II klase (166, 178). Na ovaj način, IL-10 suprimira T ćelijski imunski odgovor. Pored toga IL-10 stimuliše aktivaciju B lifocita na stvaranje IgG4 antitela i ima značajnu ulogu u humoralnom imunskom odgovoru (179,180).

U ovom istraživanju, tvrdili smo da su deca sa MP pneumonijom imala značajno više vrednosti IL-10 u odnosu na decu sa pneumonijom koja je uzrokovana drugim mikroorganizmima. Podaci iz literature o sekreciji IL-10 kod MP infekcija su različiti. Pietsch i saradnici su kod miševa sa MP infekcijom u plućnom tkivu opisali ekspresiji gena za IL-10 (168). Hardy i saradnici su pokazali da se koncentracija IL-10 u BAL kod miševa inficiranih MP nije značajno razlikovala u odnosu na zdrave miševe (170). Hoek i saradnici su utvrdili da mast ćelije glodara ne stvaraju IL-10 nakon stimulacije MP (172). Michelow i saradnici su pokazali da nije bilo značajne razlike u serumskim vrednostima IL-10 kod dece

sa MP pneumonijom i dece sa pneumonijama uzrokovanom drugim mikroorganizmima (176). Slično našim rezultatima, Pang i saradnici su pokazali da dece sa MP pneumonijom u BAL imaju veću koncentraciju IL-10 u odnosu na decu koja nemaju pneumoniju, zaključujući da bi IL-10 mogao imati značajnu ulogu u patogenezi MP pneumonije (181).

Takođe smo posebno analizirali decu sa MP infekcijom u odnosu na prisustvo atopije. Deca sa atopijom imala su više vrednosti IL-10 u odnosu na decu koja nemaju atopiju, ali ova razlika nije dostigla statističku značajnost, mada je bila na samoj granici značajnosti ($p=0,052$). Stoga, ne možemo u potpunosti isključiti mogućnost da je atopijski status imao uticaja na vrednosti IL-10 kod dece sa MP infekcijom, posebno imajući u vidu da nemamo podatke o vrednostima IL-10 pre infekcije MP. Da bi isključili uticaj genetske predispozicije, posebno smo analizirali vrednosti IL-10 kod dece sa MP infekcijom koja imaju alergiju i/ili astmu u porodici i kod dece koja nemaju ove bolesti u porodici, i utvrdili da se vrednosti IL-10 nisu značajno razlikovale kod ove dve grupe dece.

Međutim, u ovoj studiji utvrdili smo da su deca sa MP pneumonijom i vizingom imala značajno više vrednosti IL-10 u krvi u odnosu na decu koja nisu imala vizing. U literaturi nema podataka o vrednostima IL-10 kod ovih subgrupa ispitanika sa MP infekcijom, ali rezultati dobijeni u našoj studiji pokazuju da bi IL-10 mogao imati značajnu ulogu u nastanku vizinga kod dece sa MP infekcijom.

Pomoću ROC krive odredili smo graničnu vrednost IL-10 kod dece sa MP pneumonijom koja iznosi 22 pg/ml i koja ima senzitivnost od 75% i specifičnost od 49%. U dostupnoj literaturi nema sličnih podataka o vrednosti IL-10 kod dece sa MP infekcijom.

S obzirom na anti-inflamatornu ulogu IL-10, kod dece sa MP infekcijom dodatno smo analizirali korelaciju između vrednosti IL-10 i rutinski laboratorijskih analiza, povišene temperature i dužine trajanja hospitalizacije. Kod dece sa MP pneumonijom zabeležili smo negativnu korelaciju između vrednosti IL-10 i broja leukocita u perifernoj krvi, kao i između vrednosti IL-10 i CRP, ali ona nije dostigla statističku značajnost. Takođe, kod ovih ispitanika nismo utvrdili značajnu korelaciju između vrednosti IL-10 i najviše vrednosti temperature. Međutim, zabeležili smo visoko statistički značajnu

korelaciju između vrednosti IL-10 i dužine trajanja temperature, odnosno utvrdili smo da što je bila viša vrednost IL-10 u krvi kod dece sa MP infekcijom, temperatura je kraće trajala. U ovoj studiji nismo zabeležili značajnu korelaciju između vrednosti IL-10 i dužine trajanja hospitalizacije kod dece sa MP pneumonijom. U literaturi za sada nema podataka o korelaciji IL-10 sa navedenim parametrima, te nije moguće poređenje sa rezultatima drugih autora.

5.6. Poređenje dijagnostičkih metoda

U našem istraživanju za postavljanje dijagnoze MP respiratorne infekcije, korišćene su serološke metode, RT-PCR metoda i metoda kultivisanja. Svaka od ovih metoda ima specifična ograničenja. Za dokazivanje MP infekcije serološkom metodom, potreban je paran serum sa razmakom od tri nedelje, zbog čega ova metoda ima veći značaj u epidemiološkim studijama, u kojim se dijagnoza potvrđuje retrospektivno, u odnosu na kliničku praksu gde su potrebni brzo dostupni rezultati. Molekulrane metode omogućava brzu dijagnostiku, imaju veliku osetljivost i specifičnost, ali ovim metodama se bez razlike MP detektuje kod akutne infekcije i kod perzistiranja uzročnika nakon infekcije. Pored toga, još uvek su nedostupne u mnogim laboratorijama. Rast u kulturi je veoma spor i traje do šest nedelja, zbog čega se ova metoda retko koristi u rutinskoj dijagnostici MP infekcija. Poređenje navedenih metoda je u velikoj meri otežano ne postojanje referentne metode odnosno „zlatnog standarda“ za dijagnozu MP infekcije.

Akutna MP infekcija je u našoj studiji, serološki dijagnostikovana kod 22 dece, od kojih je 18 dece imalo specifičan IgM odgovor u serumu uzetom u akutnoj fazi bolesti. Mnogi autori ističu da su kod pedijatrijskih bolesnika povišene vrednosti IgM antitela u pojedinačnom serumu pouzdan pokazatelj MP infekcije, s obzirom da se kod dece najčešće radi o primarnoj infekciji (5,109). Uzimajući namanje četverostruki porast titra IgG antitela u pranom serumu kao zlatni standard, utvrdili smo da IgM serologija u serumu u akutnoj fazi bolesti ima senzitivnost 82% i specifičnost 100%. Ovako dobijen rezultat pokazuje da će kod 82% bolesnika sa MP infekcijom ovaj metod biti pozitivan, ali da će kod 18%

bolesnika sa MP infekcijom, IgM serologija biti negativna (18% bolesnika biće lažno negativni). Specifičnost metode od 100% pokazuje da će kod svih bolesnika koji nemaju MP infekciju test biti negativan (neće biti lažno pozitivnih bolesnika). Nadal i saradnici su koristeći isti zlatni standard kod dece sa MP pneumonijom, naveli da senzitivnost ove metode iznosi 78% a specifičnost 99% (145).

Slične rezultate za IgM serologiju smo dobili i kada smo RT-PCR metodu uzeli kao referentni metod, senzitivnost 80% i specifičnost 99%. Waris i saradnici su kod dece sa MP pneumonijom utvrdili da ova metoda ima senzitivnost 79% i specifičnost 98% (109). Chang i saradnici su u pedijatrijskoj populaciji, posmatrajući RT-PCR metodu kao zlatni standard zabeležili senzitivnost i specifičnost IgM metode od 62% i 86% (158).

Senzitivnost serologije u velikoj meri zavisi od vremena uzimanja uzorka, odnosno od toga da li je od početka infekcije prošlo dovoljno vremena za stvaranje antitela. Dobijena viša senzitivnost IgM serologije u našoj studiji mogla bi da se objasni činjenicom da su serumi za IgM serologiju uzeti prosečno devetog dana od početka bolesti, kada su već nastala antitela.

U studijama u kojima su analizirani adultni bolesnici, navedene su značajno niže vrednosti senzitivnosti za IgM serološku metodu. Qu i saradnici su utvrdili da ova metoda ima senzitivnost 7% i specifičnost 95% u poređenju sa IgG serologijom u parnom serumu (158). Koristeći isti zlatni standard Martinez i saradnici su utvrdili senzitivnost ove metode od 33% (182). Ovako niske vrednosti mogu da se objasne činjenicom da adultni bolesnici zbog mnogobrojnih reinfekcija, često u akutnoj infekciji ne stvaraju IgM antitela već samo IgG antitela. Stoga se ova metoda smatra manje pouzdanom za dijagnozu MP infekcija kod adultnih bolesnika, za razliku od pedijatrijskih bolesnika (183).

Poznato je da serološki metod ima višu senzitivnost kada imamo parni serum, jer nam to omogućava određivanje i poređenje IgG titra i samim tim utvrđivanja značajnog porasta titra antitela (11). Do sličnog zaključka došli smo i u našem istraživanju. Uzimajući RT-PCR metode kao referentnu metodu, utvrdili smo da IgG serologija u parnom serumu ima senzitivnost 90% i specifičnost 97%.

U ovoj studiji 20 dece je imalo pozitivnu RT-PCR metodu na MP. Ova metoda je bila pozitivna kod 82% serološki pozitivne dece.

Uzimajući IgG serološku metodom u parnom serumu kao zlatni standard, zabeležili smo da RT-PCR metoda ima senzitivnost 82% i specifičnost 99%. Posmatrajući IgG serologiju u parnom serumu kao referentni metod, Nadal i saradnici su kod dece sa MP pneumonijom, utvrdili da RT-PCR ima senzitivnost 79% i specifičnost 99% (145). Morozumi je u svojoj studiji pokazao da RT-PCR metoda ima veću senzitivnost (90%) i sličnu specifičnost (98%) u poređenju sa serološkom metodom (184). Međutim, nedavno sprovedene studije pokazale su nižu senzitivnost i specifičnost ove metode, bez obzira na referentni metod koji je korišćen. Uzimajući IgM serologiju kao zlatni standard, Chang i saradnici su utvrdili da RT-PCR metoda ima senzitivnost 53% i specifičnost 90% (159). Chaudhry i saradnici su koristeći isti referentni metod utvrdili još niže vrednosti senzitivnosti, svega 36%, dok je specifičnost ove metode bila 82% (185). Qu i saradnici naveli da PCR metoda ima senzitivnost 41% i specifičnost 89%, posmatrajući IgG serologiju u parnom serumu kao zlatni standard (158). Martinez i saradnici su utvrdili da senzitivnost RT-PCR metode u odnosu na IgG serologiju u parnom serumu iznosi 67%, a specifičnost 99% (182).

Senzitivnost PCR metode zavisi od tipa PCR, gena koji se koriste kao prajmeri, vrste kliničkog uzorka koji se koristi za PCR i vremena uzimanja uzorka (119). Prethodne studije su pokazale da RT-PCR metoda ima veću senzitivnost u poređenju sa PCR metodom (114,119). Viša senzitivnost RT-PCR metode dobijena u našoj studiji bi samo delimično mogla da se objasni vrstom PCR metode koja je korišćena, s obzirom da je RT-PCR korišćen i u mnogim studijama. U našem istraživanju kao prajmer za RT-PCR koristili smo P1 gen, dok su u drugim studijama korišćeni različiti geni (158,159, 182) čime bi mogla da se objasni različita senzitivnosti ove metode. U ovoj studiji RT-PCR smo radili iz brisa ždrelna, koji ima nižu senzitivnost u odnosu na sputum koji se kod dece teško dobija (116,117). Međutim, kako je i većina drugih autora je za RT-PCR koristila bris ždrelna (158, 185), vrsta uzorka najverovatnije nije uticala na senzitivnost RT-PCR metode u našoj studiji. Bris ždrelna za RT-PCR je u našoj studiji prosečno uzet osmog dana bolesti. Mnogi

autori u svojim studijama nisu tačno precizirali kada su u odnosu na početak bolesti uzeti uzorci za PCR (182,185), iako je poznato da vreme uzimanja uzorka utiče na senzitivnost ove metode (119).

Pored toga, u našoj studiji smo utvrdili da je kombinacijom dve metode, IgM serologije u serumu u akutnoj fazi bolesti i RT-PCR, dijagnostikovano čak 92% ispitanika sa MP pneumonijom. Dobijeni rezultati ukazuju da na istovremenoj primeni ovih metoda trebala da se zasniva rana dijagnostika MP infekcija kod dece sa pneumonijom.

Osamnaestoro dece je u ovoj studiji imalo pozitivnu kulturu na MP. U ovom istraživanju utvrdili smo da metoda kultivisanja u odnosu na IgG serologiju u parnom serumu ima senzitivnost 82% i specifičnost 100%. Osetljivost i specifičnost kulture u našem istraživanju je viša u odnosu na istraživanja drugih autora (54). Međutim, Chang i saradnici su u nedavno pokazali da je upravo kultura imala najveću senzitivnost i specifičnost u poređenju sa PCR i serologijom (159)

U našoj studiji, MP infekcije je potvrđena kod 75% dece sa sve tri metode istovremeno. Međutim, kod preostale dece zabeležili smo neslaganje između rezultata dobijenih različitim metodama. Četvoro serološki pozitivne dece u našoj studiji, imalo je negativan rezultat RT-PCR, što je najverovatnije posledica nestanka ili malog broja bakterija u brisu ždrele (11). Dvoje dece sa pozitivnim RT-PCR na MP imalo je negativnu serologiju, što bi moglo da se objasni neadekvatnim imunskim odgovorom kod te dece (186,187).

6. ZAKLJUČAK

U skladu sa postavljenim ciljevima istraživanja, na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti sledeće:

- *Mycoplasma pneumoniae* je bila uzročnik pneumonije kod 14,5% dece sa van bolnički stečenom pneumonijom.
- Učestalost MP pneumonije je bila visoko statistički značajno veća kod dece uzrasta 5 do 15 godina, u odnosu na decu uzrasta do pet godina ($p < 0,01$).
- Infekcija MP je bila statistički značajno češća kod dečaka u odnosu na devojčice ($p < 0,05$).
- Deca sa MP pneumonijom bila su visoko statistički značajno starija u odnosu na decu sa pneumonijom koja je uzrokovana drugim mikroorganizmima ($p < 0,01$).
- Kod dece sa MP pneumonijom povišena temperatura pre uključenja u studiju trajala je statistički značajno duže u odnosu na decu sa pneumonijom koja nije uzrokovana MP ($p < 0,05$).
- Deca sa MP pneumonijom imala su značajno niže vrednosti telesne temperaturu u poređenju sa decom sa pneumonijom koja nije uzrokovana MP ($p < 0,05$).
- Učestalost kašlja je bila statistički značajno veća kod dece sa MP pneumonijom u poređenju sa decom sa pneumonijom uzrokovanom drugim mikroorganizmima ($p < 0,05$).
- Kod dece sa MP pneumonijom, kašalj je pre uključenja u studiju trajao statistički značajno duže u odnosu na decu sa pneumonijom koja nije uzrokovana MP ($p < 0,05$).
- Učestalost glavobolje je bila visoko statistički značajno veća kod dece sa MP pneumonijom u odnosu na decu sa pneumonijom uzrokovanom drugim mikroorganizmima ($p < 0,01$).
- Kod dece sa MP pneumonijom, učestalost simptoma infekcije gornjih disajnih puteva, otežanog disanja, bola u grudima i gastrointestinalnih simptoma se nije

statistički značajno razlikovala u odnosu na decu sa pneumonijom koja nije uzrokovana MP ($p>0,05$).

- Učestalost vizinga je bila statistička značajno veća kod dece sa MP pneumonijom u odnosu na decu sa pneumonijom uzrokovanom drugim mikroorganizmima ($p<0,05$).
- Glavobolja, vizing i muški pol su visoko statistički značajno udruženi sa MP pneumonijom ($p<0,01$), dok je uzraste preko pet godina statistički značajno udruženi sa MP pneumonijom ($p<0,05$).
- Nije zabeležena statistički značajna razlika u rutinskim laboratorijskim nalazima kod dece MP pneumonijom u poređenju sa decom sa pneumonijom koja nije uzrokovana MP ($p>0,05$).
- Nismo utvrdili statistički značajnu razliku u radiografskom nalazu kod dece MP pneumonijom i kod dece sa pneumonijom uzrokovanom drugim mikroorganizmima ($p>0,05$).
- Nije zabeležena statistički značajna razlika u učestalosti bolničkog lečenja kod dece sa MP pneumonijom i dece sa pneumonijom koja nije uzrokovana MP.
- Kod dece sa MP pneumonijom, povišena temperatura je ukupno trajala statistički značajno duže u odnosu na decu sa pneumonijom uzrokovanom drugim mikroorganizmima ($p<0,05$).
- Kašalj je trajao statistički značajno duže kod dece sa MP pneumonijom u odnosu na decu sa pneumonijom uzrokovanom drugim mikroorganizmima ($p<0,05$).
- Deca sa MP pneumonijom bila su značajno duže hospitalizovana u odnosu na decu sa pneumonijom koja nije uzrokovana MP ($p<0,05$).
- Nijedno dete sa pneumonijom uzrokovanom MP nije imalo neku od vanplućnih manifestacija bolesti.
- Sva deca sa MP pneumonijom su se u potpunosti oporavili, bez komplikacija bolesti.

- U grupi dece sa MP pneumonijom, simptomi infekcije gornjih disajnih puteva su visoko statistički značajno češće bili prisutni kod dece mlađe od pet godina u odnosu na decu uzrasta pet do 15 godina ($p < 0,01$).
- Otežano disanja je visoko statistički značajno češće bilo pristno kod dece mlađe od pet godina sa MP pneumonijom u odnosu na decu uzrasta pet do 15 godina sa MP pneumonijom ($p < 0,01$).
- Kod dece sa MP pneumonijom učestalost tahipneje je bila statistički značajno veća kod dece uzrasta mlađeg od pet godina u odnosu na decu uzrasta pet do 15 godina ($p < 0,05$).
- Fizikalni nalaz na plućima se nije značajno razlikovao kod dece sa MP pneumonijom koja su bila uzrasta mlađeg od pet godina i kod dece uzrasta pet do 15 godina ($p > 0,05$).
- Kod dece sa MP pneumonijom, nismo zabeležili značajnu razliku u radiografskom nalaz kod dece mlađe od pet godina i dece uzrasta pet do 15 godina ($p > 0,05$).
- Deca sa MP pneumonijom uzrasta mlađeg od pet godina, imala su statistički značajno niži broj granulocita u poređenju sa decom sa MP pneumonijom uzrasta pet do 15 godina ($p < 0,05$).
- Limfociti su bili statistički značajno viši kod dece sa MP pneumonijom uzrasta mlađeg od pet godina u odnosu na decu sa MP pneumonijom uzrasta pet do 15 godina
- Deca sa MP pneumonijom mlađa od pet godina, imala su statistički značajno niži broj trombocita u poređenju sa decom sa MP pneumonijom uzrasta pet do 15 godina ($p < 0,05$).
- Vrednosti hemoglobina bile su statistički značajno niže kod dece sa MP pneumonijom uzrasta mlađeg od pet godina u odnosu na decu sa MP pneumonijom uzrasta pet do 15 godina.
- Nije zabeležena statistički značajna razlika u serumskim vrednostima IL-4 kod dece sa MP pneumonijom i kod dece sa pneumonijom koja nije uzrokovana MP ($p > 0,05$).

- Kod dece sa MP infekcijom, vrednosti IL-4 u krvi se nisu statistički značajno razlikovale kod dece koja imaju atopiju i kod dece bez atopije ($p > 0,05$).
- Serumske vrednosti IL-4 se kod dece sa MP pneumonijom nisu se značajno razlikovale u odnosu na prisustvo alergije i astme u porodci ($p > 0,05$).
- Nije zabeležena statistički značajna razlika u serumskim vrednostima IL-4 kod dece sa MP pneumonijom koja su imala vizing i kod dece sa MP pneumonijom koja nisu imala vizing MP ($p > 0,05$).
- Deca sa MP pneumonijom imala su statistički značajno više serumske vrednosti IL-10 u odnosu na decu sa pneumonijom koja nije uzrokovana MP ($p < 0,05$).
- Kod dece sa MP pneumonijom, vrednosti IL-10 u krvi se nisu statistički značajno razlikovale u odnosu na prisustvo atopije ($p > 0,05$).
- Nije zabeležena statistički značajna razlika u serumskim vrednostima IL-10 kod dece sa MP pneumonijom koja su imala alergiju i astmu u porodici i kod dece sa MP pneumonijom koja nisu imala alergiju i astmu u porodici ($p > 0,05$).
- Deca sa MP pneumonijom i vizingom imala su statistički značajno više vrednosti IL-10 u krvi u odnosu na decu sa MP pneumonijom koja nisu imala vizing ($p < 0,05$).
- Kod dece sa MP infekcijom, dobijena je visoko statistički značajna negativna korelacija između vrednosti IL-10 u krvi i dužine trajanja povišene temperature ($p < 0,01$).
- Nije zabeležena statistički značajna korelacija između vrednosti IL-10 u krvi kod dece sa MP pneumonijom i visine temperature, broja leukocita, vrednosti CRP i dužine trajanja hospitalizacije ($p > 0,05$).
- Pomoću ROC krive određena je graničnu vrednost IL-10 u krvi dece sa MP pneumonijom od 22 pg/mL, koja ima senzitivnost 75% i specifičnost 49%
- U poređenju sa IgG serološkom metodom u parnom serumu kao zlatnim standardom, IgM serološka metoda u serumu u akutnoj fazi bolesti ima senzitivnost 82% i specifičnost 100%.
- U odnosu na IgG serološku metodu u parnom serumu, RT-PCR metoda ima senzitivnost 82% i specifičnost 99%

- Metoda kultivisanja u poređenju sa IgG serološkom metodom u parnom serumu ima senzitivnost 82% i specifičnost 100%.
- Kombinacijom IgM serološke metode u serumu u akutnoj fazi bolesti i RT-PCR metode dijagnostikovano je 92% dece sa MP pneumonijom.

7. LITERATURA

1. Waites KB, Talkington DF. *Mycoplasma pneumoniae* and Its Role as a Human Pathogen. Clin Microbiol Rev 2004;17:697-728.
2. Eaton MD, Meikejohn G, Van Herick W. Studies on the etiology of primary atypical pneumonia: a filterable agent transmissible to cotton rats, hamsters, and chick embryos. J Exp Med 1944;79:649-67.
3. Chanock RM, Hayflick L, Barile MF. Growth on artificial medium of an agent associated with atypical pneumonia and its identification as a PPLO. Proc Natl Acad Sci USA 1962;48:414-9.
4. Himmelreich R, Hilbert H, Plagens H et al. Complete sequence analysis of the genome of the bacterium *Mycoplasma pneumoniae*. Nucleic Acids Res 1996;24:4420–49.
5. Waites KB. New concept of *Mycoplasma pneumonia* infection in children. Pediatr Pulmonol 2003;36:267-78.
6. Waites KB, Balish M, Atkinson TP. New insights into the pathogenesis and detection of *Mycoplasma pneumonia* infection. Future Microbiol 2008;3:636-48.
7. Kannan TR, Provenzano D, Wright JR. et al. Identification and Characterization of Human Surfactant Protein A Binding Protein of *Mycoplasma pneumonia*. Infect Immun 2005;73:2828-34.
8. Kannan TR, Baseman JB. ADP-ribosylating and vacuolating cytotoxin of *Mycoplasma pneumoniae* represents unique virulence determinant among bacterial pathogens. Proc. Natl Acad Sci USA 2006;103:6724–9.
9. Techasaensiri C, Tagliabue C, Cagle M, et al. Variation in colonization, ADP-ribosylating and vacuolating cytotoxin, and pulmonary disease severity among *Mycoplasma pneumoniae* strains. Am J Respir Crit Care Med 2010;182:797–804.

10. Dallo SF, Baseman JB. Intracellular DNA replication and long-term survival of pathogenic mycoplasmas. *Microb Pathog* 2000;29:301–9.
11. Atkinson TP, Balish MF, Waites KB. Epidemiology, clinical manifestations, pathogenesis and laboratory detection of *Mycoplasma pneumoniae* infections. *FEMS Microbiol Rev* 2008;32: 956–73.
12. Koh YY, Park Y, Lee HJ et al. Levels of interleukin-2, interferon-g, and interleukin-4 in bronchoalveolar lavage fluid from patients with *Mycoplasma pneumoniae*: implication of tendency toward increased immunoglobulin E production. *Pediatrics* 2001;107:E39.
13. Lieberman, D, Livnat S, Schlaeffer F et al. IL-1beta and IL-6 in community-acquired pneumonia: bacteremic pneumococcal pneumonia versus *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia. *Infection* 1997; 25:90–4.
14. Tanaka H, Narita M, Teramoto S et al. Role of interleukin-18 and T-helper type 1 cytokines in the development of *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia in adults. *Chest* 2002;121:1493–7.
15. Narita M. Detection of *Mycoplasma pneumoniae* DNA in cerebrospinal fluid and local immune response. *Clin Infect Dis* 200;30:405–6.
16. Tanaka G, Nagatomo Y Kai Y et al. *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia of identical twin sisters with different clinical courses depending on the treatment. *Kansenshogaku Zasshi* 2002;76:1040–4.
17. Tanaka H, Koba H Honma S et al. Relationships between radiological pattern and cell-mediated immune response in *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia. *Eur Respir J* 1996;9:669–72.
18. Waites KB. What's new in diagnostic testing and treatment approaches for *Mycoplasma pneumoniae* infections in children? *Adv Exp Med Biol* 2011;719:47-57.

19. Root-Bernstein RS, Hobbs SH. Homologies between mycoplasma adhesion peptide, CD4 and class II MHC proteins: a possible mechanism for HIV-mycoplasma synergism in AIDS. *Res Immunol* 1991;142:519–23.
20. Fernald GW. In vitro response of human lymphocytes to *Mycoplasma pneumoniae*. *Infect Immun* 1972;5:552–8.
21. Martin RR, Warr G, Couch C et al. Chemotaxis of human leukocytes: responsiveness to *Mycoplasma pneumoniae*. *J Lab Clin Med* 1973;81:520–9.
22. Nakayama T, Urano T, Osano M et al. Alpha interferon in the sera of patients infected with *Mycoplasma pneumoniae*. *J Infect Dis* 1986;154:904–6.
23. Berkovich S, Millian SJ, Snyder RD. The association of viral and mycoplasma infections with recurrence of wheezing in the asthmatic child. *Ann Allergy* 1970;28:43–9.
24. Sutherland ER, Brandorff JM, Martin RJ. Atypical bacterial pneumonia and asthma risk. *J Asthma* 2004;41:863–8.
25. Kraft M, Cassell CH, Henson JE et al. Detection of *Mycoplasma pneumoniae* in the airways of adults with chronic asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;158:998–1001.
26. Gil JC, Cedillo RL, Mayagoitia BG et al. Isolation of *Mycoplasma pneumoniae* from asthmatic patients. *Ann Allergy* 1993;70:23–5.
27. Biscardi S, Lorrot M, Marc E, et al. *Mycoplasma pneumoniae* and asthma in children. *Clin Infect Dis* 2004;38:1341–6.
28. Kraft M., Cassell CH, Pak J et al. *Mycoplasma pneumoniae* and *Chlamydia pneumoniae* in asthma: effect of clarithromycin. *Chest* 2002;121:1782–8.
29. Hardy RD, Jafri HS, Olsen K et al. *Mycoplasma pneumoniae* induces chronic respiratory infection, airway hyperreactivity, and pulmonary inflammation: a murine model of infection-associated chronic reactive airway disease. *Infect Immun* 2002;70:649–54.

30. Martin RJ, Chu HW, Honour JM et al. Airway inflammation and bronchial hyperresponsiveness after *Mycoplasma pneumoniae* infection in a murine model. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2001;24:577–82.
31. Seggev JS, Sedmak GV, Kurup VP. Isotype-specific antibody response to acute *Mycoplasma pneumoniae* infection. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1996;77:67–73.
32. Esposito S, Droghetti R, Bosis S et al. Cytokine secretion in children with acute *Mycoplasma pneumoniae* infection and wheeze. *Pediatr Pulmonol* 2002;34:122–7.
33. Schwarze J, Cieslewicz G, Joetham A et al. Critical roles for interleukin-4 and interleukin-5 during respiratory syncytial virus infection in the development of airway hyperresponsiveness after airway sensitization. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;162:380–6.
34. Schwarze J, Makele M, Cieslewicz G et al. Transfer of the enhancing effect of respiratory syncytial virus infection on subsequent allergic airway sensitization by T lymphocytes. *J Immunol* 1999;163:5729–34.
35. Alexander ER, Foy HM, Kenny GE et al. Pneumonia due to *Mycoplasma pneumoniae*. Its incidence in the membership of a co-operative medical group. *N Engl J Med* 1966;275:131–6.
36. Marston Bj, Plouffe JF, File TM et al. Incidence of community-acquired pneumonia requiring hospitalization. Results of a population-based active surveillance study in Ohio. *Arch Intern Med* 1997;157:1709–18.
37. Principi N, Esposito S, Blasi F et al. Role of *Mycoplasma pneumoniae* and *Chlamydia pneumoniae* in children with community-acquired lower respiratory tract infections. *Clin Infect Dis* 2001;32:1281–9.

38. Feikin DR, Moroney JF, Talkington DF et al. An outbreak of acute respiratory disease caused by *Mycoplasma pneumoniae* and adenovirus at a federal service training academy: new implications from an old scenario. *Clin Infect Dis* 1999;29:1545–50.
39. Su CJ, Chavoya A, Dallo SF et al. Sequence divergency of the cytoadhesin gene of *Mycoplasma pneumoniae*. *Infect Immun* 1990;58:2669–74.
40. Kenri T, Okazaki N, Yamazaki T et al. Genotyping analysis of *Mycoplasma pneumoniae* clinical strains in Japan between 1995 and 2005: type shift phenomenon of *M. pneumoniae* clinical strains. *J Med Microbiol* 2008;57:469–75.
41. Dorigo-Zetsma JB, Wilbrink B, van der Nat H et al. Results of molecular detection of *Mycoplasma pneumoniae* among patients with acute respiratory infection and in their household contacts reveals children as human reservoirs. *J Infect Dis* 2001;183:675–8.
42. Foy HM. Infections caused by *Mycoplasma pneumoniae* and possible carrier state in different populations of patients. *Clin Infect Dis* 1993;17:37–46.
43. Feizi T, Maclean H, Sommerville G et al. Studies on an epidemic of respiratory disease caused by *Mycoplasma pneumoniae*. *Br Med J* 1967;1:457–60.
44. Esposito S, Cavagna R, Bosis S et al. Emerging role of *Mycoplasma pneumoniae* in children with acute pharyngitis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2002; 21:607–10.
45. Esposito S, Bosis S, Begliatti E, Droghetti R, Tremolati E, Tagliabue C, et al. Acute tonsillopharyngitis associated with atypical bacterial infection in children: natural history and impact of macrolide therapy. *Clin Infect Dis* 2006;43:206–9.
46. Clyde WA, *Mycoplasma pneumoniae* respiratory disease symposium: summation and significance. *Yale J Biol Med* 1983;56:523–7.
47. Korppi M, Heiskanen-Kosma T, Kleemola M. Incidence of community-acquired pneumonia in children caused by *Mycoplasma pneumoniae*: serological results of a prospective, population based study in primary health care. *Respirology* 2004;9:109-14.

48. Juven T, Mertsola J, Waris M. et al. Etiology of community-acquired pneumonia in 254 hospitalized children. *Pediatr Infect Dis J* 2000;19:293-8
49. Korppi M. Community-acquired pneumonia in children: issues in optimizing antibacterial treatment. *Paediatr Drugs* 2003;5:821-32.
50. Foy HM, Cooney MK, Allan T. et al. Rates of pneumonia during influenza epidemics in Seattle, 1964 to 1975. *JAMA* 1979;241:253-8.
51. Foy HM, Grayston JT, Kenny GE. et al. Epidemiology of *Mycoplasma pneumoniae* infection in families. *JAMA* 1966;197:859-66.
52. Block S, Hedrick J, Hammerschlag MR. et al. *Mycoplasma pneumoniae* and *Chlamydia pneumoniae* in pediatric community-acquired pneumonia: comparative efficacy and safety of clarithromycin vs. erythromycin ethylsuccinate. *Pediatr Infect Dis J* 1995;14:471-7.
53. Layani-Milon MP, Gras I, Valette M. et al. Incidence of upper respiratory tract *Mycoplasma pneumoniae* infections among outpatients in Rhone-Alpes, France, during five successive winter periods. *J Clin Microbiol* 1999;37:1721-6.
54. Ieven MD, Ursi H, Van Bever W et al. Detection of *Mycoplasma pneumoniae* by two polymerase chain reactions and role of *M. pneumoniae* in acute respiratory tract infections in pediatric patients. *J Infect Dis* 1996; 173:1445-52.
55. Fernald GW, Glezen P. Humoral and cellular immune responses to an inactivated *Mycoplasma pneumoniae* vaccine in children. *J Infect Dis* 1972;127:498-504.
56. Stevens D, Swift GP, Johnston PG et al. *Mycoplasma pneumoniae* infections in children. *Arch Dis Child* 1978;53:38-42.
57. Glezen WP, Loda FA, Clyde WA et al. Epidemiologic patterns of acute lower respiratory tract diseases of children in a pediatric group practice. *J. Pediatr* 1971;78:397-406.

58. Denny FW, Clyde WA, Glezen WP. *Mycoplasma pneumoniae* disease: clinical spectrum, pathophysiology, epidemiology, and control. *J Infect Dis* 1971;123:74–92.
59. Hers JF, Masurel N. Infection with *Mycoplasma pneumonia* in civilians in the Netherlands. *Ann N Y Acad Sci* 1967;143:447-60.
60. McCracken GH. Current status of antibiotic treatment for *Mycoplasma pneumoniae* infections. *Pediatr Infect Dis* 1986;5:167–71.
61. Marrie TJ. *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia requiring hospitalization with emphasis on infection in the elderly. *Arch Intern Med* 1993;153:488–94.
62. Daxboeck F, Brunner B, Popper H et al. A case of lung transplantation following *Mycoplasma pneumoniae* infection. *Eur J Clin Microbiol Infect. Dis* 202;21:318–22.
63. Ieven M, Demey H, Ursi D et al. Fatal encephalitis caused by *Mycoplasma pneumoniae* diagnosed by the polymerase chain reaction. *Clin Infect Dis* 1998;27:1552–3.
64. Kim CK, Chung CY, Kim JS, et al. Late abnormal findings on high-resolution computed tomography after *Mycoplasma pneumonia*. *Pediatrics* 2000;105:372-8.
65. Marc E, Chaussain M, Moulin F, et al. Reduced lung diffusion capacity after *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia. *The Pediatr Infect Dis J* 2000;19:706-10.
66. Becton DL, Friedman HS, Kurtzberg K et al. Severe *Mycoplasma pneumonia* in three sisters with sickle cell disease. *Pediatr Hematol Oncol* 1986;3:259–65.
67. Foy HM, Ochs H, Davis SD et al. *Mycoplasma pneumoniae* infections in patients with immunodeficiency syndromes: report of four cases. *J Infect Dis* 1973;127:388–93.
68. Roifman CM, Rao CP, Lederman HM et al. Increased susceptibility to *Mycoplasma* infection in patients with hypogammaglobulinemia. *Am J Med* 1986;80:590–4.

69. Taylor-Robinson D, Gumpel JM, Hill A et al. Isolation of *Mycoplasma pneumoniae* from the synovial fluid of a hypogammaglobulinaemic patient in a survey of patients with inflammatory polyarthritis. *Ann Rheum Dis* 1978;37:180–2.
70. Cassell GH, Cole BC. Mycoplasmas as agents of human disease. *N Engl J Med* 1981;304:80–9.
71. Koletsky RJ, Weinstein AJ. Fulminant *Mycoplasma pneumoniae* infection. Report of a fatal case, and a review of the literature. *Am Rev Respir Dis* 1980;122:491–6.
72. Narita M, Matsuzono Y, Itakura et al. Survey of mycoplasmal bacteremia detected in children by polymerase chain reaction. *Clin Infect Dis* 1996;23:522–5.
73. Narita M. Pathogenesis of neurologic manifestations of *Mycoplasma pneumoniae* infection. *Pediatr Neurol*. 2009;41:159–66.
74. Koskiniemi M. CNS manifestations associated with *Mycoplasma pneumoniae* infections: summary of cases at the University of Helsinki and review. *Clin Infect Dis* 1983;17(Suppl. 1):S52–S57.
75. Smith R, Eviatar R. Neurologic manifestations of *Mycoplasma pneumoniae* infections: diverse spectrum of diseases. A report of six cases and review of the literature. *Clin Pediatr* 2000;39:195–201.
76. Nishimura M, Saida T, Kuroki S et al. Post-infectious encephalitis with anti-galactocerebroside antibody subsequent to *Mycoplasma pneumoniae* infection. *J Neurol Sci* 1996;140:91–5.
77. Pfausler B, Engelhardt K, Kampfl A et al. Post-infectious central and peripheral nervous system diseases complicating *Mycoplasma pneumoniae* infection. Report of three cases and review of the literature. *Eur J Neurol* 2002;9:93–6.
78. Abramovitz P, Schwartzman P, Harel D et al. Direct invasion of the central nervous system by *Mycoplasma pneumoniae*: a report of two cases. *J Infect Dis* 1997;155:482–7.

79. Ponka A The occurrence and clinical picture of serologically verified *Mycoplasma pneumoniae* infections with emphasis on central nervous system, cardiac and joint manifestations. *Ann Clin Res* 1979;11(Suppl. 24):1–60.
80. Vervloet LA, Marguet C, Camargos PA. Infection by *Mycoplasma pneumoniae* and its importance as an etiological agent in childhood community-acquired pneumonias. *Braz J Infect Dis* 2007;11:507-14.
81. Ferwerda A, Moll HA, de Groot R. Respiratory tract infections by *Mycoplasma pneumoniae* in children: a review of diagnostic and therapeutic measures. *Eur J Pediatr* 2001;160:483-91.
82. Modesto AM., Reyes CS, Calabuig ME et al. Stevens- Johnson syndrome associated with atypical pneumonia *Arch Bronconeumol* 2003;39:373-5.
83. Cherry JD. Anemia and mucocutaneous lesions due to *Mycoplasma pneumoniae* infections. *Clin Infect Dis* 1993;17(Suppl. 1):S47–S51.
84. Mulvey JM, Padowitz A, Lindley-Jones M et al. *Mycoplasma pneumoniae* associated with Stevens Johnson syndrome. *Anaesth Intensive Care*. 2007;35:414–19.
85. Ali NJ, Sillis M, Andrews B et al. The clinical spectrum and diagnosis of *Mycoplasma pneumoniae* infection. *Q J Med* 1986;58:241–51.
86. Hernandez LA, Urquhart GE, Dick WC et al. *Mycoplasma pneumoniae* infection and arthritis in man. *Br. Med. J* 1977;2:14–6.
87. Weinstein MP, Hall CP. *Mycoplasma pneumoniae* infection associated with migratory polyarthritis. *Am J Dis Child* 1974;127:125–6.
88. Weng W-C, Peng SS-F, Wang SB et al. *Mycoplasma pneumoniae*-associated transverse myelitis and rhabdomyolysis. *Pediatr Neurol* 2009;40:128–30.

89. Minami K, Maeda H, Yanagawa T et al. Rhabdomyolysis associated with *Mycoplasma pneumoniae* infection. *Pediatr Infect Dis J* 2003;22:291–3.
90. Ponka A. Carditis associated with *Mycoplasma pneumoniae* infection. *Acta Med Scand* 1979;206:77–86
91. el-Khatib M, Lerner AM. Myocarditis in *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia. Occurrence with hemolytic anemia and extraordinary titers of cold isohemagglutinins. *JAMA* 1975;231:493–4.
92. Szymanski M, Petric M, Saunders FE et al. *Mycoplasma pneumoniae* pericarditis demonstrated by polymerase chain reaction and electron microscopy. *Clin Infect Dis* 2002;34:E16–E17.
93. Meseguer MA, Pe´rez-Molina JA, Fern´andez-Bustamante J et al. *Mycoplasma pneumoniae* pericarditis and cardiac tamponade in a ten-year-old girl. *Pediatr Infect Dis J* 1996;15:829–31.
94. Kenny RT, Li JS, Clyde WA et al. Mycoplasmal pericarditis: evidence of invasive disease. *Clin Infect Dis* 1993;17(Suppl 1):S58–62.
95. Simonian N, Janner D. Pleural effusion, hepatitis and hemolytic anemia in a twelve-year-old male child. *Pediatr. Infect. Dis. J* 1998;17:173–7.
96. Chryssanthopoulos C, Eboriadou M, Monti K et al. Fatal disseminated intravascular coagulation caused by *Mycoplasma pneumoniae*. *Pediatr Infect Dis J* 2001;20:634–5.
97. Bar Meir E, Amital H, Levy L et al. *Mycoplasma pneumoniae*-induced thrombotic thrombocytopenic purpura. *Acta Haematol* 2000;103:112–5.
98. Stephan JL, Galambrun C, Pozzetto B et al. Aplastic anemia after *Mycoplasma pneumoniae* infection: a report of two cases. *J Pediatr Hematol Oncol* 1999;21:299–302.

99. Salzman MB, Sood SK, Slavin ML et al. Ocular manifestations of *Mycoplasma pneumoniae* infection. Clin Infect Dis 1992;14: 1137–9.
100. BTS Guidelines for the Management of Community Acquired Pneumonia in Childhood. Thorax 2002;57:1-24.
101. McCracken GH. Diagnosis and management of pneumonia in children. Pediatr Infect Dis J 2000;19:924-8
102. John SD, Ramanathan J, Swischuk LE. Spectrum of clinical and radiographic findings in pediatric mycoplasma pneumonia. Radiographics 2001;21:121-31.
103. Decanq HG, Lee.FA. *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia. Massive pulmonary involvement and pleural effusion. JAMA 1965;194:1010–1.
104. Lee I, Kim TS, Yoon HK. Mycoplasma pneumoniae pneumonia: CT features in 16 patients. Eur Radiol 2006;16:719–25.
105. Reittner P, Muller NL, Heyneman L et al. *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia: radiographic and high-resolution CT features in 28 patients. Am J Roentgenol 2000;174:37-41.
106. O’Handley JG, Gray LD. The incidence of Mycoplasma pneumoniae pneumonia. J Am Board Fam Pract 1997;10:425-9
107. Chan ED, Welsh CH. Fulminant *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia. West J Med 1996;162:133–42.
108. Daxboeck F, Krause R, Wenisch C. 2003. Laboratory diagnosis of Mycoplasma pneumoniae infection. Clin Microbiol Infect 9:263–273.
109. Waris ME, Toikka P, Saarinen T. et al. Diagnosis of Mycoplasma pneumoniae pneumonia in children. J Clin Microbiol 1998; 36:3155-9.

110. Sillis M. The limitations of IgM assays in the serological diagnosis of *Mycoplasma pneumoniae* infections. *J Med Microbiol* 1990;33:253–8.
111. Wreghitt TG, Sillis M. A m-capture ELISA for detecting *Mycoplasma pneumoniae* IgM: comparison with indirect immunofluorescence and indirect ELISAs. *J Hyg* 1985;94:217–27.
112. Ozaki T, Nishimura N, Ahn J et al. Utility of a rapid diagnosis kit for *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia in children, and the antimicrobial susceptibility of the isolates. *J Infect Chemother* 2007;13:204–7.
113. Skakni LA, Sardet J, Just J et al. Detection of *Mycoplasma pneumoniae* in clinical samples from pediatric patients by polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 1992;30:2638–43.
114. Daxboeck F, Khanakah G, Bauer C, Stadler M, Hoffmann H, Stanek G. Detection of *Mycoplasma pneumoniae* in serum specimens from patients with *Mycoplasma pneumoniae* by PCR. *Inter J Med Microbiol* 2005; 295 :279–85.
115. Michelow IC, Olsen K, Lozano J et al. Diagnostic utility and clinical significance of naso- and oropharyngeal samples used in a PCR assay to diagnose *Mycoplasma pneumoniae* infection in children with community-acquired pneumonia. *J Clin Microbiol* 2004;42:3339–41.
116. Honda JT, Yano M, Kusaba J et al. Clinical use of capillary PCR to diagnose *Mycoplasma pneumoniae*. *J Clin Microbiol* 2000;38:1382–4.
117. Raty R, Ronkko E, Kleemola M. Sample type is crucial to the diagnosis of *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia by PCR. *J Med Microbiol* 2005;54(Pt 3):287–91.
118. Loens K, Van Heirstraeten L, Malhotra-Kumar S et al. Optimal sampling sites and methods for detection of pathogens possibly causing community-acquired lower respiratory tract infections. *J Clin Microbiol* 2009;47:21–31.

119. Zhang L, Zong ZY, Liu YB, Ye H, Lv XJ. PCR versus serology for diagnosing *Mycoplasma pneumoniae* infection: a systematic review & meta-analysis. *Indian J Med Res* 2011; 134:270-80.
120. Loens K, Ieven M, Ursi D et al. Application of NucliSens Basic Kit for the detection of *Mycoplasma pneumoniae* in respiratory specimens. *J Microbiol Methods* 2003;54:127–30.
121. Loens K, Ursi D, Goossens H et al. Molecular diagnosis of *Mycoplasma pneumoniae* respiratory tract infections. *J Clin Microbiol* 2003;41:4915–23.
122. Reznikov M, Blackmore TK, Finlay-Jones JJ et al. Comparison of nasopharyngeal aspirates and throat swab specimens in a polymerase chain reaction-based test for *Mycoplasma pneumoniae*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1995;14:58–61.
123. Dorigo-Zetsma JR, Verkooyen RP, van Helden HP et al. Molecular detection of *Mycoplasma pneumoniae* in adults with community-acquired pneumonia requiring hospitalization. *J Clin Microbiol* 2001;39:1184–6.
124. Mulholland S, Gavranich JB, Chang AB. Antibiotics for community-acquired lower respiratory tract infections secondary to *Mycoplasma pneumoniae* in children. *Cochrane Database Syst Rev*. 2010 Jul 7;(7):CD004875.
125. Harris JA, Kolokathis A, Campbell M et al. Safety and efficacy of azithromycin in the treatment of community-acquired pneumonia in children. *Pediatr Infect Dis J* 1998;17:865–71.
126. Morozumi M, Iwata S, Hasegawa K et al. Increased Macrolide Resistance of *Mycoplasma pneumoniae* in Pediatric Patients with Community-Acquired Pneumonia. *Antimicrob Agents Chemother* 2008;52:348–50.
127. Suzuki S, Yamazaki T, Narita M et al. Clinical evaluation of macrolide-resistant *Mycoplasma pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 2006;50:709–12.

128. Liu Y, Ye X, Zhang H et al. Antimicrobial susceptibility of *Mycoplasma pneumoniae* Isolates and molecular analysis of macrolide-resistant strains from Shanghai, China. *Antimicrob Agents Chemother* 2009;53:2160–2.
129. Peuchant O, Menard A, Renaudin H et al. Increased macrolide resistance of *Mycoplasma pneumoniae* in France directly detected in clinical specimens by real-time PCR and melting curve analysis. *J Antimicrob Chemother* 2009;64:52–8.
130. Atkinson TP, Waites KB. *Mycoplasma pneumoniae* Infections in Childhood. *Pediatr Infect Dis J*. 2014;33:92-4.
131. Morozumi M, Iwata S, Hasegawa K, et al. Increased macrolide resistance of *Mycoplasma pneumoniae* in pediatric patients with community-acquired pneumonia. *Antimicrob. Agents Chemother* 2008;52:348–50.
132. Chien S, Wells TG, Blumer JL, Kearns GL, Bradley JS, Bocchini JA, Jr., et al. Levofloxacin Pharmacokinetics in Children. *J Clin Pharmacol* 2005;45:153–60.
133. Gucuyener, Simsek F, Yilmaz O et al. Methylprednisolone in neurologic complications of *Mycoplasma pneumoniae*. *Indian J Pediatr* 2000;67:467–9.
134. Dionisio D, Valassina M, Mata S et al. Encephalitis caused directly by *Mycoplasma pneumoniae*. *Scand J Infect Dis* 1999;31:506–9.
135. Higuchi ML, Sambiasi N, Palomino S et al. Detection of *Mycoplasma pneumoniae* and *Chlamydia pneumoniae* in ruptured atherosclerotic plaques. *Braz J Med Biol Res* 2000; 33:1023–6.
136. Levy M, Shear HN. *Mycoplasma pneumoniae* infections and Stevens-Johnson syndrome. Report of eight cases and review of the literature. *Clin Pediatr* 1991;30:42–9.
137. World Health Organization. Dept. of Child and Adolescent Health and Development; Unicef. Management of the child with a serious infection or severe malnutrition: guidelines for care at the first referral level in developing countries. Geneva: WHO; 2000.

138. Davies H, Wang E, Manson D, Babyn P, Shuckett B. Reliability of the chest radiograph in the diagnosis of lower respiratory infections in young children. *Pediatr Infect Dis J* 1996;15:600–04.
139. Dallman PR. Reference Ranges for Leukocyte Counts in Children. Rudolph AM (ed): *Pediatrics*, 16th edition, New York, Appleton-Century-Crofts, 1977; 1178.
140. Ghoshal A, Solodin S. Evaluation of the Dade Behring Dimension RxL: integrated chemistry system-pediatric reference ranges. *Clinica Chimica Acta* 2003;331:135-46.
141. He XY, Wang XB, Zhang R et al. Investigation of *Mycoplasma pneumoniae* infection in pediatric population from 12,025 cases with respiratory infection. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2013;75:22-7.
142. Kicinski P, Wisniewska-Ligier M, Wozniakowska-Gesicka T. Pneumonia caused by *Mycoplasma pneumoniae* and *Chlamydia pneumoniae* in children - comparative analysis of clinical picture. *Adv Med Sci* 2011;56:56-63.
143. Puljiz I, Kuzman I, Dakovic-Rode O, Schönwald N, Mise B. *Chlamydia pneumoniae* and *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia: comparison of clinical, epidemiological characteristics and laboratory profiles. *Epidemiol Infect* 2006;134:548–55.
144. Defilippi A, Silvestri M, Tacchella A, Giacchino R, Melioli G, Di Marco E et al. Epidemiology and clinical features of *Mycoplasma pneumoniae* infection in children. *Respir Med* 2008;2:1762–68.
145. Nadal D, Bossart W, Zucol F. Community-acquired pneumonia in children due to *Mycoplasma pneumoniae*: diagnostic performance of a seminested 16S rDNA-PCR. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2001;39:15-9.
146. Almasri M, Diza E, Papa A, Eboriadou M, Souliou E. *Mycoplasma pneumoniae* respiratory tract infections among Greek children. *Hippokratia* 2011;15:147-52.

147. Liu CL, Wang GQ, Zhang B et al. *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia in hospitalized children diagnosed at acute stage by paired sera. *Chin Med J* 2010;123:3444-50.
148. Samransamruajkit R, Jitchaiwat S, Wachirapaes W, Deerojanawong J, Sritippayawan S, Prapphal N. Prevalence of *Mycoplasma* and *Chlamydia pneumoniae* in severe community-acquired pneumonia among hospitalized children in Thailand. *Jpn J Infect Dis* 2008;61:36-9.
149. Kashyap B, Kumar S, Sethi GR, Das BC, Saigal SR. Comparison of PCR, culture & serological tests for the diagnosis of *Mycoplasma pneumoniae* in community-acquired lower respiratory tract infections in children. *Indian J Med Res* 2008;128:134-9.
150. Sidal M, Kilic A, Unuvar E et al. Frequency of *Chlamydia pneumoniae* and *Mycoplasma pneumoniae* infections in children. *J Trop Pediatr* 2007;53:225-31.
151. Higashigawa M, Kawasaki Y, Yodoya N. Prevalence of *Mycoplasma* IgM in children with lower respiratory tract illness. *Pediatr Int* 2009;51:684-6.
152. Othman N, Isaacs D, Kesson A. *Mycoplasma pneumoniae* infections in Australian children. *J Paediatr Child Health* 2005;41:671-6.
153. Lieberman D, Schlaeffer F, Lieberman D et al. *Mycoplasma pneumoniae* community-acquired-pneumonia: a review of 101 hospitalized adult patients. *Respiration* 1996; 63:261-6.
154. Vervloet LA, Camargos PA, Soares DR, Oliveira GA, Oliveira JN. Clinical, radiographic and hematological characteristics of *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia. *J Pediatr* 2010;86:480-7.
155. Lochindarat S, Suwanjutha S, Prapphal N et al. *Mycoplasma pneumoniae* and *Chlamydia pneumoniae* in children with community-acquired pneumonia in Thailand. *Int J Tuberc Lung Dis* 2007;11:814-9.

156. Hadi N, Kashef S, Moazzen M. Survey of *Mycoplasma pneumoniae* in Iranian children with acute lower respiratory tract infections. *Braz J Infect Dis* 2011;15:97-101.
157. Esposito S, Blasi F, Bellini F et al. *Mycoplasma pneumoniae* and *Chlamydia pneumoniae* infections in children with pneumonia. *Eur Respir J* 2001;17:241–5.
158. Qu J, Gu L, Wu J et al. Accuracy of IgM antibody testing, FQ-PCR and culture in laboratory diagnosis of acute infection by *Mycoplasma pneumoniae* in adults and adolescents with community-acquired pneumonia. *BMC Infect Dis* 2013;13:172.
159. Chang HY, Chang LY, Shao PL et al. Comparison of real-time polymerase chain reaction and serological tests for the confirmation of *Mycoplasma pneumoniae* infection in children with clinical diagnosis of atypical pneumonia. *J Microbiol Immunol Infect* 2013;47:137-44.
160. Hsieh SC, Kuo YT, Chern MS, Chen CY, Chan WP, Yu C. *Mycoplasma pneumoniae*: clinical and radiographic features in 39 children. *Pediatr Int* 2007;49:363-7.
161. Madani TA, Al-Ghamdi AA. Clinical features of culture-proven *Mycoplasma pneumoniae* infections at King Abdulaziz University Hospital, Jeddah, Saudi Arabia. *BMC Infect Dis* 2001;1:6.
162. Esposito S, Blasi F, Arosio C et al. Importance of acute *Mycoplasma pneumoniae* and *Chlamydia pneumoniae* infections in children with wheezing. *Eur Respir J* 2000;16:1142-6.
163. Franquet T. Imaging of pneumonia: trends and algorithms. *Eur Respir J* 2001;18:196–208.
164. Youn YS, Lee KY, Hwang JY. Difference of clinical features in childhood *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia. *BMC Pediatr*. 2010;6:10:48
165. von Baum H, Welte T, Marre R. *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia revisited within the German Competence Network for Community-acquired pneumonia (CAPNETZ). *BMC Infect Dis* 2009;13;9:62.

166. Yang J, Hooper WC, Phillips DJ et al. Cytokines in *Mycoplasma pneumoniae* infections. *Cytokine Growth Factor Rev* 2004;15:157-68.
167. Kita M, Ohmoto Y, Hirai Y et al. Induction of cytokines in human peripheral blood mononuclear cells by *Mycoplasmas*. *Microbiol Immunol*. 1992;36:507-16.
168. Pietsch K, Ehlers S, Jacobs E. Cytokine gene expression in the lungs of BALB/c mice during primary and secondary intranasal infection with *Mycoplasma pneumoniae*. *Microbiology* 1994;140:2043-8.
169. Opitz O, Pietsch K, Ehlers S et al. Cytokine gene expression in immune mice reinfected with *Mycoplasma pneumoniae*: the role of T cell subsets in aggravating the inflammatory response. *Immunobiology* 1996;196:575-87.
170. Hardy RD, Jafri HS, Olsen K et al. Elevated cytokine and chemokine levels and prolonged pulmonary airflow resistance in a murine *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia model: a microbiologic, histologic, immunologic, and respiratory plethysmographic profile. *Infect Immun* 2001;69:3869-76
171. Schaffner E, Opitz O, Pietsch K, et al. Human pathogenic *Mycoplasma* species induced cytokine gene expression in Epstein-Barr virus(EBV)- positive lymphoblastoid cell lines. *Microb Pathol* 1998;24:257-62.
172. Hoek KL, Cassell GH, Duffy LB et al. *Mycoplasma pneumoniae*-induced activation and cytokine production in rodent mast cells. *J Allergy Clin Immunol* 2002;109:470-6.
173. Chu HW, Honour JM, Rawlinson CA et al. Effects of respiratory *Mycoplasma pneumoniae* infection on allergen-induced bronchial hyperresponsiveness and lung inflammation in mice. *Infect Immun* 2003;71:1520-6.
- | | |
|---|--|
| 1 | |
|---|--|
174. Woolard MD, Hardy RD, Simecka JW. IL-4-independent pathways exacerbate methacholine-induced airway hyperreactivity during mycoplasma respiratory disease. *J Allergy Clin Immunol* 2004;114:645-9.

175. Choi IS, Byeon JH, Yoo Y et al. Increased serum interleukin-5 and vascular endothelial growth factor in children with acute mycoplasma pneumonia and wheeze. *Pediatr Pulmonol* 2009;44:423-8.
176. Michelow IC, Katz K, George BS et al. Systemic Cytokine Profile in Children With Community-Acquired Pneumonia. *Pediatr Pulmonol* 2007;42:640-5.
177. Salvatore CM, Fonseca-Aten M, Katz-Gaynor K. Respiratory tract infection with *Mycoplasma pneumoniae* in interleukin-12 knockout mice results in improved bacterial clearance and reduced pulmonary inflammation. *Infect Immun*. 2007;75:236-42.
178. Narita M, Tanaka H, Yamada S et al. Significant role of interleukin-8 in pathogenesis of pulmonary disease due to *Mycoplasma pneumoniae* infection. *Clin Diagn Lab Immunol* 2001;8:1028–30.
179. Fiorentino DF, Zlotnik A, Vieira P et al. IL-10 acts on the antigen-presenting cell to inhibit cytokine production by Th1 cells. *J Immunol* 1991;146:3444–51.
180. Akdis CA, Joss A, Akdis M et al. Mechanism of IL-10-induced T cell inactivation in allergic inflammation and normal response to allergens. *Int Arch Allergy Immunol* 2001;124:180–2.
181. Pang HX, Qiao HM, Cheng HJ Levels of TNF- α , IL-6 and IL-10 in bronchoalveolar lavage fluid in children with *Mycoplasma pneumoniae* pneumoni. *Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi*. 2011;13:808-10
182. Martinez MA, Ruiz M, Zunino E et al. Detection of mycoplasma pneumoniae in adult community-acquired pneumonia by PCR and serology. *J Med Microbiol* 2008;57:1491–5.
183. Sillis M. The limitations of IgM assays in the serological diagnosis of *Mycoplasma pneumoniae* infections. *J Med Microbiol* 1990;33:253–8.

184. Morozumi M, Nakayama E, Iwata S et al. Simultaneous detection of pathogens in clinical samples from patients with community-acquired pneumonia by real-time PCR with pathogen-specific molecular beacon probes. *J Clin Microbiol* 2006;44:1440-6.
185. Chaudhry R, Sharma S, Javed S, Passi K, Dey AB, Malhotra P. Molecular detection of *Mycoplasma pneumoniae* by quantitative real-time PCR in patients with community acquired pneumonia. *Indian J Med Res* 2013;138:244-51.
186. Talkington DF, Shott S, Fallon MT, Schwartz SB, Thacker WL. Analysis of eight commercial enzyme immunoassay tests for detection of antibodies to *Mycoplasma pneumoniae* in human serum. *Clin Diag Lab Immunol* 2004;11:862-7.
187. Waites KB, Balish MF, Atkinson TP. New insights into the pathogenesis and detection of *Mycoplasma pneumoniae* infections. *Future Microbiol* 2008;3:635-48

SPISAK SKRAĆENICA

BAL	Bronhoalveolarni lavat
CRP	C reaktivni protein
CT	Kompijuterizovana tomografija
ELISA	Enzim imunotest
IFN- γ	Iinterferon γ
Ig	Imunoglobulin
IL	Interleukin
MHC	Glavni histokompatibilni kompleks
MP	Mycoplasma pneumoniae
NPV	Negativna prediktivna vrednost
PCR	Reakcija lančane polimerizacije
PPV	Pozitivna prediktivna vrednost
RT-PCR	Real-time reakcija lančane polimerizacije
SE	Sedimentaciju eritrocita
TNF- α	Faktor nekroze tumora α

BIOGRAFIJA AUTORA

Dr Biljana Međo je rođena 18.3.1972. godine u Stuttgartu u Nemačkoj. Medicinski fakultetu Beogradu je završila 1998. godine sa prosečnom ocenom 9,61. Od 2000. godine stalno je zaposlena na Univerzitetnoj dečjoj klinici u Beogradu. Specijalistički ispit iz pedijatrije položila je 2003. godine sa odličnim uspehom. Od 2003. godine radi kao specijalista pedijatar na Odeljenju pedijatrijske i neonatalne intenzivne nege Univerzitetke dečje klinike u Beogradu.

Magistarsku tezu pod nazivom „Procena efekata rane primene inhalacionog azot oksida kod dece sa akutnim respiratornim distres sindromom“ odbranila je 2010. godine. Rad iz uže specijalizaciju iz pulmologije pod nazivom „Uticaj izloženosti alergenima kućnih ljubimaca na razvoj astme kod dece školskog uzrasta" odbranila je 2010. godine. Izabrana je u zvanje kliničkog asistenta za predmet pedijatrija na Medicinskom fakultetu u Beogradu 2012. godine. Autor je i koautor u preko 70 stručnih radova od kojih je 8 radova publikovano u celini u međunarodnim i domaćim časopisima, a ostali radovi su štampani kao izvodi u publikacijama inostranih i domaćih kongresa.

Prilog 1.

Izjava o autorstvu

Potpisani-a Biljana Međo

broj upisa _____

Izjavljujem

da je doktorska disertacija pod naslovom

„Usporedno ispitivanje klasičnih i molekularnih metoda u dijagnostici pneumonije izazvane bakterijom *Mycoplasma pneumoniae* kod dece“

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada,
- da predložena disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za dobijanje bilo koje diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova,
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršio/la autorska prava i koristio intelektualnu svojinu drugih lica.

Potpis doktoranda

U Beogradu, 20.02.2015.

Međo Biljan

Prilog 2.

Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada

Ime i prezime autora _____ Biljana Međo _____

Broj upisa _____

Studijski program _____

Naslov rada „Uporedno ispitivanje klasičnih i molekularnih metoda u dijagnostici
pneumonije izazvane bakterijom *Mycoplasma pneumoniae* kod dece“

Mentor Prof.dr Slobodanka Đukić

Komentor Doc.dr Marina Atanasković-Marković

Potpisani _____ Biljana Međo _____

izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predao/la za objavljivanje na portalu **Digitalnog repozitorijuma Univerziteta u Beogradu**.

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog zvanja doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada.

Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

Potpis doktoranda

U Beogradu, 20.02.2015.



Prilog 3.

Izjava o korišćenju

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Svetozar Marković“ da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

„Uporedno ispitivanje klasičnih i molekularnih metoda u dijagnostici pneumonije izazvane bakterijom *Mycoplasma pneumoniae* kod dece“

koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim priložima predao/la sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučio/la.

1. Autorstvo
2. Autorstvo - nekomercijalno
3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerade
4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima
5. Autorstvo – bez prerade
6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima

(Molimo da zaokružite samo jednu od šest ponuđenih licenci, kratak opis licenci dat je na poleđini lista).

Potpis doktoranda

U Beogradu, 20.02.2015.

