مقایسه PCR با کشت برای تشخیص اوره پلاسما اوره لیتیکم در نمونه‌های تناسلی مردان نابارور

دکتر شهین نجار پیرایه[1*]، حبیب ضیغمی[1]، معین فرشچیان[1]، جواد عطوفی[1]

۱- گروه میکرب‌شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس

دریافت: ۸۵/۹/۲۰ پذیرش: ۸۶/۹/۱۵

Title: *Comparison of PCR and culture for diagnosis of Ureaplasma urealyticum in genital specimens of infertile men*

Authors: *Najar Peerayeh S, (PhD); Zeighami H, (MSc); Farshchiyan M, (MSc); Atoofi J, (MSc).*

Introduction: *Ureaplasma urealyticum genital infection is a sexually transmitted that is involved in non-gonococcal urethritis, prostatitis, epididymitis, and infertility. The organism is seen in infertile couples more commonly than in healthy couples. U. urealyticum infection not only jeopardizes fertility but also poses infertility treatment and the resultant pregnancies at risk. Diagnosis of U. urealyticum infections by conventional bacterial methods is very difficult. The aim of this study was to compare culture with Polymerase Chain Reaction (PCR) for detection of U. urealyticum in semen of infertile and healthy men.*

Methods: *From each of the two groups of infertile and healthy men who referred to infertility treatment center of Rouyan Institute in Tehran, 100 semen specimens were obtained. Regular spermogram was done. Bacterial DNA was extracted with Cadieux method and analyzed with PCR protocol, using species-specific primers for U. urealyticum (urease gene). Bacterial culture was done with broth-agar method.*

Results: *U. urealyticum was detected by PCR in 12 semen specimens (12%) from infertile patients and in three specimens (3%) from healthy men. Result of culture was positive in five specimens (5%) from infertile patients and in one specimen (1%) from healthy men. The volume of seminal fluid, number of sperm cells, and percent of sperm cells with normal morphology were significantly decreased in infertile men. These three parameters were lower in infertile men with PCR positive than in infertile men men with PCR negative results.*

Conclusion: *Since U. urealyticum has a potential causative role in several sexually transmitted diseases, reproductive failure, and neonatal morbidity and mortality, its detection with PCR is important and necessary in infertile couples. PCR is a sensitive method, and it is more rapid than culture for the detection of U. urealyticum in the clinical specimens (<24 hour hours versus 2-4 days).*

Keywords: *Ureaplasma urealyticum, infertility, semen, PCR.*

Hakim Research Journal 2007; 10(3): 48- 53.

* نویسنده مسؤول: دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم پزشکی، گروه میکرب‌شناسی، تلفن: ۸۲۸۸۳۸۴۰ ، نمابر:۸۸۰۱۳۰۳۰

پست الکترونیک: najarp_s@modares.ac.ir

www.SID.ir

چکیده

مقدمه: *عفونت تناسلی اوره پلاسما اوره لیتیکم از عفونت‌های منتقله از راه جنسی است که در ایجاد یورتریت غیرگونوککی، پروستاتیت، اپیدیدیمیت و ناباروری دخالت دارد. این باکتری در زوج‌های نابارور بیشتر از زوج های سالم دیده می‌شود. عفونت اوره پلاسما اوره لیتیکم نه تنها باروری را به مخاطره می‌اندازد، بلکه خطری برای درمان ناباروری وآبستنی حاصل از آن نیز می‌باشد. تشخیص این باکتری با روش‌های مرسوم باکتریایی بسیار مشکل است. هدف این مطالعه، مقایسه دو روش کشت و* PCR *برای تشخیص اوره پلاسما اوره لیتیکم در مایع منی مردان نابارور و سالم بود.*

روش کار: *از هر یک از دو گروه افراد نابارور و افراد سالم مراجعه کننده به مرکز درمان ناباروری انستیتو رویان تهران، ۱۰۰ نمونه مایع منی تهیه گردید. آزمایش معمول اسپرموگرام بر روی نمونه‌ها انجام شد.* DNA *باکتری با روش* Cadieux *استخراج شد و با استفاده از پرایمرهای اختصاصی اوره پلاسما اوره لیتیکم (ژن اوره‌آز)،* PCR *انجام گردید. همچنین کشت باکتری با روش براث- آگار انجام شد.*

یافته‌ها: *اوره پلاسما اوره لیتیکم در ۱۲ نمونه مایع منی (۱۲٪) افراد نابارور و در سه نمونه (۳٪) افراد سالم با روش* PCR *تشخیص داده شد. نتیجه کشت در پنج نمونه بیماران نابارور (۵٪) و یک نمونه افراد سالم (۱٪) مثبت بود. حجم مایع منی، تعداد سلول‌های اسپرم و درصد سلول‌های اسپرم با مرفولوژی طبیعی در مردان نابارور به طور معنادار کاهش داشت. سه مشخصه اخیر، در مردان نابارور با نتیجه مثبت* PCR، *کمتر از مقادیر مشابه در مردان ناباروری بود که نتیجه* PCR *منفی داشتند.*

نتیجه‌گیری: *از آنجا که اوره پلاسما اوره لیتیکم نقش سببی بالقوه در چندین بیماری منتقله از راه جنسی، ناباروری، بیماری و مرگ‌ومیر نوزادان دارد؛ تشخیص آن با* PCR *در زوج‌های نابارور لازم ومهم است.* PCR *روشی حساس است و برای تشخیص اوره پلاسما اوره لیتیکم در نمونه‌های بالینی بسیار سریع‌تر از کشت می باشد (کمتر از ۲۴ ساعت در مقابل ۲ تا ۴ روز).*

گل‌واژگان: *اوره پلاسما اوره لیتیکم، ناباروری، مایع منی،* PCR.

مقدمه

مایکوپلاسماها باکتری‌های بدون دیواره سلولی هستند و در میزبان‌های مختلفی چون انسان، حیوانات، گیاهان و حشرات پیدا می‌شوند. مایکوپلاسماها از کوچک‌ترین باکتری‌های دارای زندگی آزاد هستند. ژنوم آنها حدود ۶۰۰-۵۰۰ Kbp است که در مقایسه با ژنوم اشرشیاکلی (۴۶۰۰Kbp) بسیار کوچک می‌باشد. بعضی از مایکوپلاسماها بخشی از فلور طبیعی نواحی مخاطی هستند و تعدادی نیز در بیماری‌های دستگاه تنفسی و ادراری- تناسلی انسان نقش دارند (۱). اوره پلاسماها یکی از اعضای مهم فامیلی مایکوپلاسماها هستند که با توانایی مصرف اوره‌آز سایر مایکوپلاسماها متمایز می‌گردند. اوره پلاسما اوره لیتیکم اولین بار توسط شپارد[1] در ۱۹۵۴ از یورتریت غیرگونوککی مردان جدا گردید (۲). اوره پلاسما اوره لیتیکم دارای دو بیووار...[2] و چهارده سروار ...[3] است. بیووار ۱متشکل از سرووارهای۱، ۳، ۶ و ۱۴ و بیووار ۲ حاوی سرووارهای ۲، ۴، ۵ و۱۳-۷ است (۳). اوره پلاسما اوره لیتیکم از باکتری‌هایی است که انتقال جنسی دارد و در مردان و زنان در سنین باروری زیاد دیده می‌شود. این باکتری سبب یورتریت، پروستاتیت، اپیدیدیمیت و ناباروری در مردان می‌گردد (۶ -۴). بررسی‌های اپیدمیولوژیکی نشان می‌دهد اوره پلاسما اوره لیتیکم با ناباروری در انسان ارتباط دارد. در بعضی گزارشات میزان جداسازی اوره پلاسما اوره لیتیکم از سرویکس زنان نابارور و مایع منی همسران آنها بیشتر از زوج‌های سالم است (۹ -۷). افزون بر این در مایع منی دارای

[1] Shepard

[2] Biovar

[3] Serovar

Archive of SID
www.SID.ir

اوره پلاسما اوره لیتیکم نسبت به نمونه فاقد باکتری، اسپرم دارای حرکت ضعیف، اشکال غیرطبیعی و به تعداد کمتر دیده می‌شود (۱۲ -۱۰). ولی چگونگی دخالت اوره پلاسما اوره لیتیکم در ناباروری هنوز به خوبی روشن نشده است، مخصوصاً که این باکتری ازمایع منی مردان سالم نیز جدا می‌گردد (۱۳).

راه اصلی تشخیص آزمایشگاهی اوره پلاسما اوره لیتیکم جداسازی از راه کشت است. کشت باکتری سخت، گران و با اتلاف وقت همراه است. زیرا این باکتری سخت‌رشد و نیاز به محیط‌های اختصاصی و مکمل‌های غذایی مخصوص و کارشناس با تجربه دارد و ۲ تا ۴ روز طول می‌کشد تا نتیجه کشت معلوم گردد. تشخیص سرولوژیک نیز به دلیل هتروژنی و واکنش‌های متقاطع با مشکلاتی همراه است. روش‌های ملکولی نظیر PCR، انقلابی را در تشخیص بیماری‌های عفونی مخصوصاً بیماری‌هایی که عامل سببی آنها سخت‌رشد و یا غیرقابل کشت است، ایجاد کرده‌اند. حساسیت زیاد و سادگی انجام PCR سبب شده است که در تشخیص مایکوپلاسماهای سخت‌رشد به کار گرفته شود. ولی گزارشات اندکی برای تشخیص اوره پلاسما اوره لیتیکم باPCR در مردان نابارور وجود دارد. در این تحقیق به بررسی فراوانی اوره پلاسما اوره لیتیکم در مردان نابارور با استفاده ازPCR و کشت پرداختیم.

روش کار

نمونه‌های بالینی: نمونه مایع منی از ۱۰۰ مرد نابارور و ۱۰۰ مرد سالم (بارور) گرفته شد. آزمایشات روتین مایع منی (اسپرموگرام) بر روی هر کدام از نمونه‌ها انجام گردید. همچنین نمونه‌ها جهت انجام کشت و PCR به آزمایشگاه میکرب‌شناسی منتقل شدند. همزمان مشخصات بیماران و افراد سالم ثبت گردید.

کشت آزمایشگاهی: برای کشت باکتری از محیط اختصاصی براث [1] و آگار [2] 10B استفاده شد. این محیط حاوی محیط Mycoplasma base، ۲۰٪سرم اسب، ۱۰٪ عصاره مخمر، ال- سیستئین، DNA، ایزوایتلکس، اوره و فنل رد با PH حدود ۶ است. برای جلوگیری از رشد میکروارگانیسم‌های دیگر پنی‌سیلین، پلی‌میکسین B و آمفوتریپسین B به محیط‌های کشت اضافه گردید. محیط 10B broth حاوی نمونه به مدت یک هفته در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد، گرماگذاری شد و هر روز PH محیط که با تغییر رنگ محیط از زرد به ارغوانی همراه است،کنترل گردید. در صورت تغییر رنگ محیط به ارغوانی که نشانه رشد باکتری است؛ باکتری ازمحیط مایع به محیط جامد 10B agar منتقل و در اتمسفر CO2 ۵٪ و دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد برای مشاهده کلنی‌های اوره پلاسما اوره لیتیکم گرماگذاری گردید. کلنی‌های اوره پلاسما اوره لیتیکم بر خلاف کلنی‌های تی پیک مایکوپلاسمایی، نیمرویی شکل نبوده و کلنی کوچک با ظاهر گرانوله هستند که به سختی زیر میکروسکوب دیده می‌شوند.

استخراج DNA از نمونه‌ها: DNA از سویه رفرانس اوره پلاسما اوره لیتیکم سروتایپ VIII (اهدایی از انستیتو Statns Serum دانمارک) و نمونه‌های بالینی با روش کادیوکس [3] و همکاران (۱۴) استخراج گردید. به طور خلاصه یک میلی‌لیتر از نمونه در g × ۱۲۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید و سپس رسوب آن با PBS شسته و در ۵۰ میکرولیتر آب مقطر دیونیزه حل شد و پس از قرار دادن در بن ماری ۹۶ درجه به مدت ۱۰ دقیقه، برای انجام PCR مورد استفاده قرار گرفت.

انجام PCR: برای انجام PCR از پرایمرهای معرفی شده از ژن اوره از اوره پلاسما اوره لیتیکم استفاده گردید (۱۵). ترادف بازی این پرایمرها عبارتند از:

U4(5′- ACGACGT CCATAAGCAACT-3′) و *U5*(5′- CAATCTGCTCGTGAAGTATTAC-3′)

PCR با ۵۰ میکرولیتر مخلوط حاوی ۱۰ میکرولیتر بافر 10xPCR، ۲/۵ میلی‌مول MgCl2، ۲۰۰ میکرومول dNTP، ۱/۲۵ واحد آنزیم تک پلیمراز، ۲۰ پیکومول از هر کدام از پرایمرها و ۷ میکرولیتر از نمونه DNA انجام گرفت. این مخلوط در دستگاه ترمال سایکلر (اپندورف) قرار گرفت و با برنامه دناتوره شدن اولیه در ۹۴ درجه به مدت ۳ دقیقه و سپس ۳۰ سیکل با برنامه دناتوره شدن در ۹۴ درجه به مدت ۱ دقیقه، اتصال پرایمرها به DNA هدف در ۵۲ درجه به مدت ۱ دقیقه، طویل شدن در ۷۲ درجه به مدت ۱ دقیقه دنبال شد. مرحله extension نهایی ۱۰ دقیقه در ۷۲ درجه بود.

شناسایی محصول PCR: ژل آگاروز ۱٪ حاوی اتیدیوم بروماید تهیه شد و ۱۰ میکرولیتر از محصول PCR نمونه‌های بالینی، کنترل مثبت (سویه رفرانس) و کنترل منفی (آب مقطر) درون چاهک‌های ژل قرار داده شد و الکتروفورز گردید.

تجزیه و تحلیل آماری: پس از گردآوری داده‌ها با استفاده از بسته‌های نرم افزاری SPSS و Ecxel و با آزمون آماری کای- دو تحلیل آماری صورت گرفت.

[1] 10B borth
[2] 10B agar
[3] Cadieux

www.SID.ir
Archive of SID

نتایج

نتایج PCR: اوره پلاسما اوره لیتیکم در ۱۲ تا از ۱۰۰ نمونه (۱۲٪) مایع منی مردان نابارور و در ۳ تا از ۱۰۰ نمونه (۳٪) مایع منی افراد سالم با PCR تشخیص داده شد. اختلاف معنادار بین حضور اوره پلاسما اوره لیتیکم در بین دو گروه مورد بررسی مشاهده گردید ($p<۰/۰۵$).

شکل ۱ الکتروفورز ژل آگاروز برای محصولات تکثیر شده با PCR را نشان می‌دهد. قطعه ۴۲۹bp از ژن اوره‌آز برای تشخیص اوره پلاسما اوره لیتیکم تکثیر گردید. این قطعه ژنی بسیار اختصاصی است و تحت شرایط اپتیمم می‌تواند کمتر از ۱۰ CFU از این باکتری را تشخیص دهد (۱۵).

شکل ۱- آنالیز الکتروفورتیک محصولات PCR برای اوره پلاسما اوره لیتیکم: ۱ مارکر bp ۱۰۰، ۲ سویه رفرانس (۴۲۹bp)، ۳ کنترل منفی (آب مقطر)، ۷-۴ نمونه‌های مثبت برای اوره پلاسما اوره لیتیکم

نتایج اسپرمو گرام: حجم نمونه منی در مردان نابارور با PCR مثبت برای اوره پلاسما اوره لیتیکم به طور معناداری کمتر از گروه سالم بود ($p< ۰/۰۰۱$ جدول ۱). در صد سلول‌های متحرک اسپرم در هر دو گروه مردان نابارور اختلاف معنادار با افراد سالم نشان داد ($p< ۰/۰۰۱$ جدول ۱). تعداد سلول‌های اسپرم نیز در هر دو گروه مردان نابارور به طور معنادار پایین بود ($p< ۰/۰۰۱$ جدول ۱). در گروه مردان نابارور با PCR مثبت برای اوره پلاسما اوره لیتیکم تعداد اسپرم کمتر از مردان نابارور با PCR منفی برای اوره پلاسما اوره لیتیکم بود؛ هر چند از نظر آماری این اختلاف معنادار نبود. در صد سلول‌های غیرطبیعی اسپرم در هر دو گروه مردان نابارور نسبت به گروه سالم کنترل نیز بطور معنادار زیاد بود ($p< ۰/۰۰۱$ جدول ۱).

جداسازی اوره پلاسما اوره لیتیکم از نمونه‌های بالینی با کشت و مقایسه آن با نتایج PCR: اوره پلاسما اوره لیتیکم از ۵ نمونه (۵٪) مردان نابارور و از یک نمونه (۱٪) افراد سالم با استفاده از کشت جدا گردید. همه نمونه‌های مثبت شده با کشت دارای نتیجه مثبت با روش PCR بودند. بنابراین اگر کل نتایج مثبت به دست آمده (۱۲ نمونه) در مردان نابارور را ۱۰۰٪ نتایج فرض کنیم، حساسیت روش کشت نسبت به نتایج PCR، ۴۱/۶٪ خواهد بود. در افراد سالم نیز در کل ۳ نمونه مثبت بود و حساسیت روش کشت نسبت به نتایج PCR در این گروه، ۳۰/۳٪ بود.

جدول ۱- نتایج اسپرموگرام بیماران نابارور و افراد سالم و مقایسه نتایج PCR و اسپرموگرام در افراد نابارور

بیماران نابارور (۱۰۰ نفر)		افراد سالم (۱۰۰نفر)	
PCR منفی mean±SE	PCR مثبت mean±SE	پارامترهای مایع منی mean±SE	پارامترهای مایع منی
۲/۳۰±۰/۴۰**	۳/۰۹±۰/۱۹	۳/۴۷±۰/۱۴	حجم (ml)
۱۷/۹۹±۴/۳۷*	۱۷/۸۶±۱/۵۸*	۳۹/۰۱±۰/۳۹	حرکت (%)
۲۹/۸۳±۱۹/۶۱*	۳۶/۱۵±۶/۵۰*	۹۲/۵۰±۶/۶۲	تعداد اسپرم ($ml \times ۱۰^۶$)
۸/۳۳±۱/۸۸*	۸/۶۴±۰/۷۲*	۴۰/۴۸±۰/۴۱	مرفولوژی طبیعی(%)

* P<0.001 ** P<0.05

سن بیماران و افراد سالم بین ۲۱ تا ۵۱ سال بود. در جدول ۲ فراوانی اوره پلاسما اوره لیتیکم بر اساس سن نشان داده شده است. اختلاف معنادار آماری بین سن افراد مورد بررسی و حضور اوره پلاسما اوره لیتیکم مشاهده نگردید.

جدول ۲- فراوانی اوره پلاسما اوره لیتیکم برحسب گروه‌های سنی

گروه‌ها	سن / نتایج PCR	۳۰ -۲۱	۴۰ -۳۱	۵۱ -۴۱	جمع
افراد سالم	PCR منفی	۳۵	۵۲	۱۰	۹۷
	PCR مثبت	۲	۱	۰	۳
افراد نابارور	PCR منفی	۳۰	۴۶	۱۲	۸۸
	PCR مثبت	۴	۶	۲	۱۲

بحث و نتیجه‌گیری

در این تحقیق با استفاده از روش PCR و کشت، فراوانی اوره پلاسما اوره لیتیکم را در نمونه‌های مایع منی افراد نابارور و سالم نشان دادیم. PCR روش آسان، سریع، بسیار حساس و اختصاصی است که برای تشخیص اوره پلاسما اوره لیتیکم از نمونه‌های بالینی مورد استفاده قرار گرفته است (۴ و ۱۹ -۱۴). اوره پلاسما اوره لیتیکم در مقایسه با باکتری‌های دیگر به دلیل نداشتن دیواره سلولی به شرایط محیطی نظیر PH، دما و ترکیبات موجود در محیط کشت بسیار حساس است و به هنگام نمونه‌برداری و یا انتقال به آزمایشگاه ممکن است باکتری ضعیف و یا از بین رفته و در محیط‌های کشت قابل بازیابی نباشد. در حالی که در روش PCR، برای انجام آزمایش نیاز به باکتری زنده نیست و بنابراین نتایج کمتر تحت تأثیر نمونه‌برداری و انتقال قرار می‌گیرد. از طرف دیگر کشت اوره پلاسما اوره لیتیکم

Archive of SID
www.SID.ir

در شرایط مطلوب بیش از ۲ تا ۴ روز طول می‌کشد و به محیط‌های کشت بسیار اختصاصی با مکمل‌های غذایی و کارشناس با تجربه آزمایشگاهی نیاز دارد که کار کشت آن را پرهزینه و با اتلاف وقت همراه می‌نماید؛ در حالی که با روش PCR می‌توان در عرض چند ساعت چندین نمونه را به طور همزمان مورد آزمایش قرار داد و نتایج را منعکس نمود (۱۹-۱۴).

تنگ[1] و همکاران(۱۶) حساسیت روش PCR را با کشت برای تشخیص اوره پلاسما اوره لیتیکم مقایسه کردند. آنها از ۵۰ نمونه مختلف از دستگاه ادراری- تناسلی در ۱۲ نمونه با PCR و در ۵ نمونه با استفاده از کشت اوره پلاسما اوره لیتیکم را تشخیص دادند. کلیه نمونه‌های مثبت با کشت با PCR نیز نتیجه مثبت داشتند. در نتیجه PCR را بسیار حساس‌تر از کشت گزارش نمودند. پولوسن[2] (۱۷) نتایج کشت و PCR را برای نمونه‌های سوآب یورترال مقایسه نموده و حساسیت PCR را بیشتر از کشت گزارش نمود. در تحقیق حاضر نیز حساسیت کشت در مقایسه با نتایج PCR، ۳۰٪ تا ۴۰٪ می‌باشد. علاوه بر حساسیت بالای روش PCR، سرعت انجام و سادگی آن از مزایای مهم این روش در تشخیص اوره پلاسما اوره لیتیکم در نمونه‌های بالینی است.

در این تحقیق همچنین نشان دادیم که اوره پلاسما اوره لیتیکم در مایع منی مردان نابارور به طور معنادار بیش از افراد سالم می‌باشد. فراوانی اوره پلاسما اوره لیتیکم در زوج‌های نابارور (۴۲٪ تا ۹۵٪) بیش اززوج‌های بارور (۲۳٪ تا ۲۶٪) گزارش شده است (۲۰ و ۲۱). افزون بر این چندین خصوصیت غیرطبیعی در مایع منی نظیر عیوب مرفولوژیکی، حرکت، کاهش تعداد اسپرم و کاهش نفوذ اسپرم در تخمک در صورت وجود اوره پلاسما اوره لیتیکم گزارش می‌گردد (۱۲ -۱۰ و ۲۲). در این تحقیق، هر چند اختلاف معنادار در حجم، حرکت، مرفولوژی و تعداد اسپرم بین بیماران نابارور و افراد سالم مشاهده گردید؛ ولی بین بیماران نابارور با نتیجه مثبت PCR برای اوره پلاسما اوره لیتیکم با بیماران نابارور با نتیجه منفی برای اوره پلاسما اوره لیتیکم تفاوت اندک در خصوصیات مایع منی مشاهده شد.

هنوز تصویر روشنی از نقش اوره پلاسما اوره لیتیکم در ناباروری مردان و زنان وجود ندارد و اطلاعات موجود نمی‌توانند نقش این باکتری را در ناباروری رد یا اثبات نمایند ولی چون اوره پلاسما اوره لیتیکم از باکتری‌هایی است که از راه جنسی منتقل می‌گردد، وجود آن در یکی از همسران می‌تواند سبب کلونیزه شدن آن در دیگری باشد .به طوری که ترام[3] و همکاران (۲۳) نشان دادند، مردان نابارروری که دارای اوره پلاسما اوره لیتیکم بودند، کشت سواپ سرویکال زنان آنان نیز نتیجه مثبت برای اوره پلاسما اوره لیتیکم داشت. همچنین به دلیل اثراتی که کلونیزه شدن این باکتری در دستگاه تناسلی زنان بر مشکلات حین بارداری نظیر سقط جنین، تولد زود تر از موعد نوزاد، تولد نوزاد کم وزن دارد و نیز آلودگی نوزادان به هنگام تولد می‌تواند منجر به عفونت تنفسی و پنومونی گردد (۱۸ و ۲۴ و ۲۵). تشخیص این باکتری با PCR و درمان آن مخصوصاً در جفت‌های نابارور که درمان‌های سخت و پرهزینه را متحمل می‌شوند، مفید و سودمند می‌باشد.

[1] Teng
[2] Polvsen
[3] Trum

References

1- Razin S, Yogev D, Naot Y. Molecular biology and pathogenicity of mycoplasmas. Microbiol Mol Biol Rev 1998;62:1094-1156.

2- Shepared MC, Lunceford CD, Ford DK. Ureaplasma urealyticum gen. nov: Proposed nomenclature for the human T mycoplasma. Int J Syst Bacterial 1974; 24: 160 -171.

3- Harasawa R, Hodges WM, and Hruby DE. Two genomic clusters among 14 serovars of Ureaplasma urealyticum. Syst Appl Microbiol 1991; 14:393-396

4- Badalyan RR, Fanarjyan SV, and Aghajanyan IG. Chlamydial and ureaplasmal infections in patients with nonbacterial chronic prostatitis. Andrologia 2003; 35: 263-265.

5- Jalil N, Doble A, Gilchrist C, and Taylor- Robison D. Infection of epididymis by Ureaplasma urealyticum. Genitourin Med 1988; 64:367-368.

6- Salan MH, and Kanmi A. Prevalence of Ureaplasma urealyticum and Mycoplasma genitalium in men with non-gonococcal urethritis. Eastern Mediterranean Health J 2003;9:291-294.

7- Gnarpe H, and Friberrgy M. Mycoplasma and human reproductive failure. Am J Obstet Gynecol 1972; 114L727-731.

8- Charpe H, and Friberrgy M. T- mycoplasmas as a possible cause for reproductive failure. Nature 1973;242: 120-121.

9- Taylor- Robison D. Evaluation of the rate of Ureaplasma urealyticum in infertility. Pediatr Infect Dis 1989;5(suppl): 262-265.

10- Nunez-Calonge R, Caballero P, Redondo C, et al. Ureaplasma urealyticum reduces motility and induces membrane altrations in human spermatozoa. Hum Reprod 1998;13(10): 257-261.

11- Malka R, Kahane I, Bartov B. In vitro and In vivo impairment of human and Ram sperm nuclear chromatin integrity by sexually transmitted Ureaplasma urealyticum infection. Biol Reprod 2000; 63: 1041-1048.

Archive of SID
www.SID.ir

12- Shalika S, Dugan K, Smith RD, et al. The effect of positive semen bacterial and Ureaplasma cultures on in vitro fertilization success. Hum Reprod 1996;11: 2789-2792.
13- Jong Z, Pontonnier F, Plante P, et al. Comparison of the incidence of Ureaplasma urealyticum in infertile men and in donors of semen. Eur Urol 1990; 18:127-131.
14- Cadieux N, Lebel P, Brousseau R. Use of a triplex polymerase chain reaction for the detection and differentiation of Mycoplasma pneumoniae and Mycoplasma genitalium in the presence of human DNA. J Gen Microbiol 1993;139:2431-2437.
15- Blanchard A, Henstehel J, Duffy L, et al. Detection of Ureaplasma urealyticum by polymerase chain reaction in the urogenital tract of adults, in amniotic fluid, and in the respiratory tract of newborns. Clin Infect Dis 1993;17(suppl 1): 48-53.
16- Teng K, Li M, Yu H, et al. Comparison of PCR with culture for detection of Ureaplasma urealyticum in clinical samples from patients with urogenital infections. J Clin Microbiol 1994; 32: 2232-2234.
17- Polveson K, Jensen JS, Lind I. Detection of Ureaplasma urealyticum by PCR and biovar determination by liquid hybridization. J Clin Microbiol 1998; 36:3211-3216
18- Yoon BH, Romero R, Kim M, et al. Clinical implications of detection of Ureaplasma urealyticum in the amniotic cavity with the Polymerase chain reaction. Am J Obstet Gynecol 2000; 183:1130-1137.
19- Witkin SS, Kligman J, Grifo JA, et al. Ureaplasma urealyticum and Mycoplasma hominis detected by the polymerase chain reaction in the cervices of women undergoing in vitro fertilization :prevalence and consequences. J Assist Reprod Genet 1995; 12(9): 610-614
20- Potts JM, Shrama R, Pasqualotto F, et al. Association of Ureaplasma urealyticum with abnormal reactive species levels and absence of leukocytopermia. J Urol 2000; 163: 1775-1778.
21- Fowlkes DM, Dooher GB, O·Leary WM. Evidence by scanning electron microscopy for an association between spermatozoa and T-mycoplasmas in men of infertile marriage. Fretil Steril 1975; 26:1203-1207.
22- Kalugan T, Chan PJ, Seraj IM, et al. Polymerase chain reaction enzyme-linked immunosorbent assay detection of mycoplasma consensus gene in sperm with low oocyte penetration capacity. Fretil Steril 1996; 66:793-797
23- Trum JW, Pannekoek Y, Spanjaard L, et al. Accurate detection of male subclinical genital tract infection via cervical culture and DNA hybridization assay of the female partner. Int J Androl 2000;23(1): 43-45.
24- Yoon BH, Romero R, Park JS, et al. Fetal exposure to an intra- amniotic inflammation and the development of cerebral palsy at the age of three years. Am J Obstet Gynecol 2000;182:675-681.
25- Grether JK, and Nelson KB. Maternal infection and cerebral palsy in infants of normal brith weight. JAMA 1997; 287: 207-211.

Archive of SID

www.SID.ir