دانشور
پزشکی

تشخیص مایکوپلاسما هومینیس با PCR در نمونه‌های اندوسرویکس زنان نابارور

نویسندگان: دکتر شهین نجارپیرایه[1] و رقیه صمیمی[2]

۱. استادیار گروه باکتری‌شناسی، دانشکده پزشکی دانشگاه تربیت مدرس
۲. کارشناس ارشد گروه باکتری‌شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه تربیت مدرس
* نویسنده مسئول: Email: najarp_s@modares.ac,ir

دوماهنامه علمی - پژوهشی
دانشگاه شاهد
سال چهاردهم - شماره ۶۶
دی ۱۳۸۵

وصول: ۸۳/۸/۱۰
ارسال اصلاحات: ۸۴/۲/۵
دریافت اصلاحات: ۸۴/۲/۲۵
پذیرش: ۸۴/۷/۱۸

چکیده

مقدمه: مایکوپلاسما هومینیس از معروف‌ترین مایکوپلاسماهای بیماری‌زای دستگاه تناسلی- ادراری انسان است که موجب یورتریت، واژینوز باکتریایی، بیماری التهابی لگن، سقط جنین، پیلونفریت، ناباروری، تولد زودرس، تولد نوزاد کم وزن، مننژیت نوزادان، پنومونی نوزادان و آبسه‌های مغزی در نوزادان می‌گردد. تشخیص عفونت‌های مایکوپلاسما هومینیس با روش‌های مرسوم باکتریایی بسیار مشکل است. هدف این تحقیق، بررسی فراوانی مایکوپلاسما هومینیس در نمونه‌های اندوسرویکس زنان نابارور با استفاده از روش PCR است.

مواد و روش‌ها: ۳۷۷ نمونه سواب اندوسرویکس از زنان نابارور تهیه گردید. DNA با روش Cadieux استخراج گردید و PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ژن 16S rRNA جنس مایکوپلاسماها و گونه مایکوپلاسما هومینیس انجام شد.

نتایج: در ۱۴۱ (۳۷/۴ درصد) نمونه از ۳۷۷ بیمار، DNA مایکوپلاسماها تشخیص داده شد. از این ۱۴۱ نمونه، ۵۶ (۱۴/۸۵ درصد) نمونه با پرایمرهای اختصاصی ژن 16S rRNA مایکوپلاسما هومینیس نتیجه مثبت نشان دادند. ارتباط معنادار آماری بین مایکوپلاسما هومینیس و بیماران دارای سرویسیت مشاهده گردید.

بحث: چون مایکوپلاسما هومینیس نقش سببی در بیماری‌های دستگاه تناسلی-ادراری و همچنین آثار سوء بالقوه در موفقیت درمان ناباروری و بارداری حاصل از آن دارد، تشخیص سریع و آسان آن با PCR در زنان نابارور می‌تواند از اهمیت خاصی برخوردار باشد.

واژه‌های کلیدی: مایکوپلاسما هومینیس، ناباروری، PCR، بیماری‌های دستگاه تناسلی- ادراری

مقدمه

مایکوپلاسماها از کوچک‌ترین باکتری‌هایی هستند که زندگی آزاد دارند و در محیط کشت فاقد سلول زنده رشد می‌کنند. این باکتری‌ها به علت نداشتن دیواره سلولی و اندازه کوچک به راحتی از سایر باکتری‌ها متمایز می‌گردند. اندازه ژنوم مایکوپلاسماها کوچک‌تر و مقدار G+C در صد ژنوم هم از دیگر باکتری‌ها کم‌تر است. مایکوپلاسماها با میزبان‌های مختلف سازگاری یافته‌اند و در انسان، حیوانات، گیاهان و حشرات پیدا می‌شوند. این باکتری‌ها در انسان اغلب در دستگاه تنفسی فوقانی و تناسلی-ادراری سکونت دارند [۱].

Archive of SID
www.SID.ir

مایکوپلاسما هومینیس از مایکوپلاسماهای انسانی است که از دستگاه تنفسی فوقانی و تناسلی-ادراری افراد بی‌علامت جدا می‌گردد. این باکتری در دستگاه تناسلی-ادراری زنان ۲۱ تا ۵۴ درصد و در مردان ۴ تا ۱۳ درصد دیده می‌شود [۲و۳]. مایکوپلاسما هومینیس در دستگاه تنفسی فوقانی ۱ تا ۳ درصد افراد سالم، بیش از ۸ درصد افراد بزرگسال با بیماری مزمن تنفسی و بیش از ۳۰ درصد کودکان دارای التهاب مزمن لوزه وجود دارد [۴و۵].

مایکوپلاسما هومینیس از باکتری‌هایی است که انتقال جنسی دارد و عفونت‌های آن اغلب در ناحیه دستگاه تناسلی-ادراری است. این باکتری در واژینوز باکتریایی، سالپنژیت، تب بعد از زایمان و سقط جنین، عفونت زخم سزارین، بیماری التهابی لگن، پیلونفریت و یورتریت نقش دارد. اکتساب مایکوپلاسما هومینیس طی عبور از کانال زایمان ممکن است سبب منتژیت، عفونت خون، چشم و آبسه‌های مغزی در نوزادان گردد [۱۰-۵]. نقش مایکوپلاسما هومینیس در ناباروری انسان از سال‌ها پیش مورد مطالعه قرار گرفته، ولی هنوز در هاله‌ای از ابهام قرار دارد. اما شواهدی دال بر نقش آن در ناباروری ناشی از عیوب لوله‌ای در زنان و آثار منفی بر باروری مردان وجود دارد [۱۳-۱۱].

روش تشخیص آزمایشگاهی مایکوپلاسماها از طریق سرولوژی و یا جداسازی باکتری با کمک کشت است. تشخیص سرولوژیک به‌دلیل هتروژنی و واکنش‌های متقاطع با مشکلاتی همراه است و چون مایکوپلاسماها بسیار سخت‌رشد هستند و نیاز به مکمل‌های غذایی خاص دارند، کشت آزمایشگاهی آن‌ها بسیار گران و با صرف وقت زیاد (تا ۵ روز) صورت می‌گیرد. بنابراین به روش‌های سریع برای تشخیص این باکتری نیاز است. روش‌های ملکولی و مخصوصاً واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) برای تشخیص بیماری‌های مختلف از جمله بیماری‌های عفونی و مخصوصاً بیماری‌هایی که عامل سببی آن‌ها سخت رشد و یا قابل کشت نیستند، به‌کار گرفته شده است. PCR روش بسیار سریع، حساس و اختصاصی است که به کمک آن می‌توان مایکوپلاسماها را در نمونه‌های مختلف بالینی شناسایی کرد. در این تحقیق با توجه به اهمیت مایکوپلاسما هومینیس در بیماری‌های مختلف دستگاه تناسلی-ادراری به بررسی فراوانی این باکتر ی در بین زنان نابارور با روش PCR پرداختیم.

مواد و روش ها

نمونه‌های بالینی: سواپ اندوسرویکس از سیصد و هفتاد و هفت نفر زن نابارور ۱۷ تا ۴۵ ساله گرفته شد و بلافاصله در لوله حاوی یک میلی‌لیتر PBS استریل (1.5 mM KH_2Po_4, 0.1M Nacl, 2.5mM Kcl, 10mM Na_2HPo_4,pH 7.4) برای انجام آزمایش PCR قرار گرفت. همزمان مشخصات بیماران (سن، میزان تحصیلات، مدت ناباروری و.....) و علائم بالینی مشاهده شده (ترشح چرکی، سرویسیت،....) ثبت گردید.

استخراج DNA از نمونه‌ها – DNA از سویه رفرانس مایکوپلاسما هومینیس PG 21 (اهدایی از انستیتو Statns Serum دانمارک) و نمونه‌های بالینی با روش Cadieux و همکاران [۱۴] استخراج گردید. به‌طور خلاصه یک میلی‌لیتر از نمونه در g × ۱۲۰۰۰ به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید و سپس رسوب آن با PBS شسته شد و در ۵۰ میکرولیتر آب مقطر دیونیزه حل گردید. آنگاه پس از قرار دادن در بن‌ماری ۹۶ درجه به مدت ۱۰ دقیقه، برای انجام PCR مورد استفاده قرار گرفت.

انجام PCR : ابتدا برای تشخیص مایکوپلاسماها از پرایمرهای اختصاصی جنس استفاده گردید. سپس از پرایمرهای اختصاصی گونه برای شناسایی مایکوپلاسما هومینیس استفاده شد. قطعات ژنی 16S rRNA اختصاصی مایکوپلاسماها با استفاده از پرایمرهای منتشر شده اختصاصِ جنس [۱۵] GSO و MGSO تکثیر گردید. PCR با ۵۰ میکرولیتر مخلوط حاوی ۱۰ میکرولیتر بافر 10xPCR، ۲/۵ میلی‌مول $MgCl_2$، ۲۰۰ میکرومول dNTP، ۱/۲۵ واحد آنزیم تک پلیمراز، ۲۰ پیکومول از هر کدام از پرایمرها و ۷ میکرولیتر از نمونه

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱ سکانس بازی پرایمرهای مورد استفاده

پرایمرهای جنس مایکوپلاسما	GSO-Forward (5-GGGAGCAAACAGGAT TAG ATACCCT-3) MGSO- Reverse (5 –TGCACCATCTGTCACTCTGTTAACCTC-3)
پرایمرهای گونه م. هومینیس	RNAH1-Forward (5 - CAA TGG CTA ATG CCG GAT ACG C -3) RNAH2-Reverse (5 - GGT ACC GTC AGT CTG CAA T -3)

DNA انجام گرفت. این مخلوط در دستگاه ترمال سایکلر (اپندروف) 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 ۶۴ 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. از پرایمرهای منتشر شده RNAH1 و RNAH2 توسط بلانکارد (Blanchard) و همکاران او [۱۶] برای تشخیص مایکوپلاسما هومینیس استفاده گردید (جدول۱). برای انجام PCR مخلوط واکنش مانند مرحله قبل تهیه شد و در دستگاه ترمال سایکلر قرار گرفت و تکثیر DNA هدف با برنامه دناتوره شدن اولیه ۳ دقیقه در ۹۴ درجه و سپس ۳۰ سیکل با برنامه ۹۴ درجه (دناتوره شدن)، ۶۲ درجه (اتصال)، ۷۲ درجه (طویل شدن) هر کدام به‌مدت ۱ دقیقه و مرحله extension نهایی در ۷۲ درجه در ۱۰ دقیقه انجام گرفت.

شناسایی محصول PCR

ژل آگاروز ۱ درصد 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 گرفت و الکتروفورز گردید.

تجزیه و تحلیل آماری

پس از گردآوری داده‌ها با استفاده از بسته‌های نرم‌افزاری SPSS و اکسل و با آزمون آماری کای-دو (x^2) تحلیل آماری صورت گرفت.

نتایج

برای هر نمونه دو آزمایش PCR انجام شد. PCR اول با پرایمرهای اختصاصی GSO و GMSO که قطعات ژن 16S rRNA را تکثیر می‌کنند و با همه گونه‌های جنس مایکوپلاسما و نیز جنس‌های اوره پلاسما، اسپیروپلاسما و آکوله پلاسما واکنش دارد [۱۵]. از ۳۷۷ بیمار مورد بررسی، ۱۴۱ (۳۷/۴ درصد) نفر دارای DNA برای مایکوپلاسماها بودند. از این ۱۴۱ نمونه، ۵۶ نمونه برای مایکوپلاسما هومینیس مثبت شد که ۳۹/۷۱ درصد نمونه‌های مایکوپلاسما مثبت و ۱۴/۵۸ درصد کل نمونه‌ها راتشکیل می‌داد (جدول ۲).

جدول ۲ تشخیص مایکوپلاسماها و مایکوپلاسما هومینیس با PCR

تعداد کل / نمونه‌ها	تعدادنمونه ها		نتایجPCR
	منفی PCR	مثبتPCR	
۳۷۷	۲۳۶	(٪۳۷/۴) ۱۴۱	مایکوپلاسماها
۳۷۷	۳۲۱	(٪۱۴/۸) ۵۶	مایکوپلاسما هومینیس

جدول۳ فراوانی‌مایکوپلاسماهومینیس برحسب‌گروه‌های‌سنی

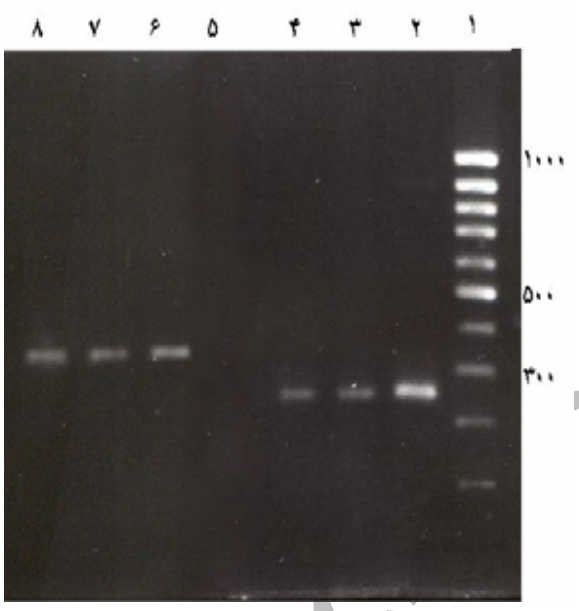
	۱۷-۲۷	۲۸-۳۷	۳۸-۴۷
تعداد نمونه	۱۸۱	۱۶۴	۳۲
تعداد مثبت	۳۱	۱۹	۶
درصد(مثبت)	٪۱۷/۱	٪۱۱/۵	٪۱۸/۷

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ٤ فراوانی مایکوپلاسما هومینیس برحسب علا ئم بالینی

	ناباروری اولیه	ناباروری ثانویه	دارای سقط	بدون سقط	سرویسیت	بدون سرویسیت	ترشح چرکی	بدون ترشح چرکی
تعداد نمونه	۲۸۷	۹۰	۶۷	۳۱۰	۷۴	۳۰۳	۱۰۹	۲۶۸
تعداد مثبت	۴۳	۱۳	۹	۴۷	۱۶	۴۰	۱۶	۴۰
درصد (مثبت)	٪۱۴/۹	٪۱۴/۴	٪۱۳/۴	٪۱۵/۱	٪۲۱/۶	٪۱۳/۲	٪۱۴/۶	٪۱۴/۹

شکل ۱ الکتروفورز ژل آگاروز برای محصولات تکثیر شده با PCR را نشان می‌دهد. قطعه ژن تکثیر شده برای پرایمرهای اختصاصی جنس باند ۲۷۰bp و قطعه تکثیر شده با پرایمرهای مایکوپلاسما هومینیس باند ۳۳۴bp دارند. سن بیماران از ۱۷ تا ۴۵ سال بود و فراوانی مایکوپلاسما هومینیس بر اساس سن بیمار در جدول ۳ نشان داده شده است. اختلاف معنادار آماری بین سن بیماران گروه مثبت برای مایکوپلاسما هومینیس مشاهده نگردید. مایکوپلاسما هومینیس در ۲۱/۶ درصد بیماران دارای سرویسیت تشخیص داده شد که در مقایسه با سایر بیماران، اختلاف معناداری ($p<0/1$) را نشان می‌دهد؛ ولی ارتباط معناداری بین وجود این باکتری با سایر علائم بالینی مشاهده نگردید (جدول۴).



شکل ۱ آنالیز الکتروفورتیک محصولات PCR برای جنس مایکوپلاسما و مایکوپلاسما هومینیس:۱) مارکر bp ۱۰۰، ۲) سویه رفرانس (۲۷۰bp)، ۳و۴) نمونه‌های مثبت بیمار برای جنس مایکوپلاسما، ۵- کنترل منفی(آب مقطر)، ۶) سویه رفرانس(bp ۳۳۴)، ۷و۸) نمونه مثبت بیمار برای گونه مایکوپلاسما هومینیس.

بحث

در این تحقیق با استفاده از روش PCR فراوانی مایکوپلاسماها را در نمونه‌های اندوسرویکس زنان نابارور نشان دادیم. PCR روش آسان، سریع، بسیار حساس و اختصاصی است و برای تشخیص مایکوپلاسماها از نمونه‌های بالینی مورد استفاده قرار گرفته است [۱۹-۱۷]. با این‌که مایکوپلاسما هومینیس نسبت به سایر مایکوپلاسماهای انسانی آسان‌تر در شرایط آزمایشگاهی رشد می‌یابد، ولی در مقایسه با باکتری‌های دیگر به‌دلیل نداشتن دیواره سلولی به شرایط محیطی نظیرpH، 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 باشد و در محیط‌های کشت قابل بازیابی نباشد. در حالی‌که در روش PCR برای انجام آزمایش نیاز به باکتری زنده نیست و

www.SID.ir

بنابراین نتایج کم‌تر تحت تأثیر نمونه‌برداری و انتقال قرار می‌گیرد. از طرف دیگر، کشت مایکوپلاسما هومینیس در شرایط مطلوب بیش از ۲ تا ۵ روز طول می‌کشد و به محیط‌های کشت بسیار اختصاصی با مکمل‌های غذایی و کارشناس با تجربه آزمایشگاهی نیاز دارد که کار کشت آن‌را پر هزینه و با صرف وقت زیاد همراه می‌کند؛ در حالی‌که با روش PCR می‌توان در عرض چند ساعت چندین نمونه را به‌طور همزمان مورد آزمایش قرار داد و نتایج را منعکس کرد [۲۰،۱۰و۲۱]. در این تحقیق ۳۷/۴۸ درصد از ۳۷۷ نمونه سواب اندوسرویکس که از بیماران نابارور تهیه شده بود، نتیجه مثبت برای DNA مایکوپلاسماها داشت. این میزان در مقایسه با گزارش‌های مختلف از سایر کشورها (حدود ۴۰ تا ۵۰ درصد) کم‌تر است. البته تأکید می‌شود که کلونیزه شدن مایکوپلاسماها در دستگاه ادراری-تناسلی زنان ارتباط معنادار آماری با عواملی نظیر شرایط اجتماعی-اقتصادی پایین، فقر، عفونت‌های باکتریایی یا تک یاخته‌ای دیگر، استفاده از داروهای پیشگیری از بارداری و مخصوصاً تعداد یاران جنسی دارد [۲و۲۲]؛ شرایطی که کم‌تر در بیماران مورد مطالعه این تحقیق وجود داشت.

مایکوپلاسما هومینیس در ۱۴/۵۸ درصد کل بیماران تشخیص داده شد. این باکتری در غیاب هر نوع بیماری در واژن یاسرویکس پیدا می‌شود، ولی با بیماری‌های مختلف دستگاه ادراری-تناسلی، نظیر واژینوز باکتریایی، یورتریت، بیماری التهابی لگن، تب بعد از زایمان و سقط جنین، پیلونفریت و سالپنژیت ارتباط دارد [۲۸-۱۸] و مخصوصاً نشان داده‌اند که به هنگام بارداری می‌تواند سبب تولد نوزاد زودرس و یا نوزاد کم وزن گردد [۹و۲۹]. اکتساب مایکوپلاسما هومینیس طی عبور از کانال زایمان نیز گزارش شده که سبب عفونت خون، پنومونی، مننژیت و آبسه‌های مغزی می‌گردد [۲۹،۷و۳۰]. نتایج به‌دست آمده در این تحقیق از نمونه‌های زنان نابارور، ارتباط معنادار آماری بین این باکتری با سرویسیت را نشان می‌دهد.این همراهی توسط سایرین هم گزارش گردیده است [۳۰-۲۴]؛ ولی ارتباط آماری بین کلونیزاسیون مایکوپلاسما هومینیس براساس سن بیماران مشاهده نشد و تشخیص این باکتری در گروه‌های سنی ۱۷ تا۴۵ سال اختلاف معناداری را نشان نداد. در گزارش‌ها آمده است که مایکوپلاسماهای تناسلی در زنان جوان با فعالیت جنسی زیاد بیش‌تر مشاهده می‌گردد [۲و۲۲]. به‌نظر می‌رسد فعالیت جنسی زیاد بیش از سن در کلونیزه شدن باکتری نقش داشته باشد.

با توجه به این‌که مایکوپلاسما هومینیس از ، نوع باکتری‌هایی است که می‌تواند از طریق جنسی منتقل گردد و نقش بالقوه در ناباروری مردان (تأثیر بر اسپرم) و زنان (در موارد آسیب لوله‌ها) دارد [۱۳-۱۱] و مخصوصاً با توجه به نقش بارزی که در سقط جنین، تولد زود رس نوزاد و یا نوزاد کم وزن دارد و همچنین به‌دلیل این‌که کلونیزه شدن مایکوپلاسما هومینیس در نوزادان به هنگام تولد می‌تواند سلامتی آن‌ها را به مخاطره اندازد، شناسایی و تشخیص به موقع این باکتری در زنان نابارور که درمان‌های پر هزینه و سخت را متحمل می‌گردند، حائز اهمیت و توجه است.

منابع

1. Baczynska A, Svenstrup H, Fedder J, Birkelund S, Christianse G. Development of real-time PCR for detection of Mycoplasma hominis. BMC. Microbiol. 2004, 4: 35-43.
2. Xiaotian Z, Olson DA, Tully JG, Watson HL, Cassell GH, Gustafson RD, Svien KA, Smith TF. Isolation of Mycoplasma hominis from a brain abscess. J. Clin. Microbiol. 1997, 35(4): 992-994.
3. McCormack WM. Epidemiology of Mycoplasma hominis. Sex Transm. Dis. 1983, 10: 26-62.
4. Mufson MA. Mycoplasma hominis: a review of its as a respiratory tract pathogen of humans. Sex Transm. Dis. 1983, 10: 335-340.
5. Huminer D, Pitlik S, Levy R. Samra Z. Mycoplasma and chlamydia in adenoids and tonsils of children undergoing in adenoidectomy or tonsillectomy. Ann. Otol. Rhinol. Laryngol. 1994, 103: 135-138.
6. Fenkci V, Yilmazer M, Aktepe OC. Have Ureaplasma urealyticum and Mycoplasma hominis infections any significant effect on women fertility? Infez. Med. 2002, 10(4): 220-223.

Archive of SID

www.SID.ir

7. Abdel-Hag N, Asmar B, Brown W. Mycoplasma hominis scalp abscess in the newborn. Pediatr. Infect. Dis. J. 2002, 21(12): 1171-73.

8. Mattila PS, Carlson P, Sivonen A, Savola J, Luosto R, Salo J, Valtonen M. Life-threating Mycoplasma hominis Mediastinitis. Clin. Infect. Dis. 1999, 29: 1529-37.

9. Poul Vk, Gupta U, Singh M, Nag VL, Takkar D, Bhan MK. Association of genital mycoplasma colonization with low birth weight. Int.J. Gynaecol. Obstet. 1998, 63: 109-114.

10. Luki N, Lebe PM, Boucher M, Doray B, Turgeon J, BrousseauR. Comparison of PCR assay with culture for detection of genital mycoplasmas in perinatal infections. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 1998, 17: 255-263.

11. Trum JW, Pannekoek Y, Spanjarad L, Bleker OP, Van Der Veen F. Accurate detection of male subclinical genital tract infection via cervical culture and DNA hybridization assay of the female partner. INT. J. Androl. 2000, 23: 43-45.

12. Tyagi P. Mycoplasmal antibodies as determined with an enzyme-linked immunosorbent assay, intubal infertility. Indian J. Med. Sci. 1999, 53: 481-485.

13. Kohn FM, Erdmann I, Oeda T,Mulla KF, Schiefer HG, Schill WB. Influence of urogenital infections on sperm functions. Andrologia. 1998, 309(suppl 1): 73-80.

14. Cadieux N, Lebel P, and 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. Kuppeveld FJ, Johansson KE, Galama JM etal. Detection of mycoplasma contamination in cell cultures by a Mycoplasma group-specific PCR. Appl. Env. Microbiol. 1994,4:149-152.

16. Blanchard A, Yanez A, Dybvig K, Watson HL, Griffiths G, Cassell H. Evaluation of interspecies genetic variation within the 16SrRNA gene of Mycoplasma hominis and detection by polymerase chain reaction. J. Ckin. Microbil. 1993,31(5): 1358-1361.

17. Yoshida T,Maeda SI, Deguchi T, Miyazawa T, Ishiko H. Rapid detection of Mycoplasma genitalium, Mycoplasma hominis, Ureaplasma parvum and Ureaplasma urealyticum organisms in genitourinary samples by PCR-microtiter plate hybridization assay. J. Clin. Microbiol. 2003, 41: 1850-55.

18. Yoshida T,Maeda SI, Deguchi T, Ishiko H. Phylogeny-based rapid identification of Mycoplasmas and Ureaplasmas from urethritis patients. J. Clin. Microbiol. 2002, 40: 105-110.

19. Andrade-Rocha FT. Ureaplasma urealyticum and Mycoplasma hominis in men attending for routine semen analysis. Prevalence, incidence by age and clinical setting and clinical value. Urol.Int. 2003, 71: 377-81.

20. Choppa PC, Vojdani A, Tagle, Andrin R, Magtoto L. Multiplex PCR for detection of Mycoplasma fermentans, Mycoplasma hominis, and Mycoplasma penetrans in cell cultures and blood samples of patients with chronic fatigue syndrome. Moll. Cell Probes. 1998, 12:301-308.

21. Cultrea R, Dussoix Dr, Romani R, Contini C. Use of PCR to detect mycoplasma DNA in respiratory tract specimens from adult HIV-positive patients. J. Med. Microbiol. 1998, 47: 983-986.

22. Clegg A, Passey M, Yoannes M, Michael A. High rates of genital Mycoplasma infection in the Highlands of Papua New Guinea determined both by culture and by a commercial detection Kit. J. Clin. Microbiol. 1997, 35: 197-200.

23. Arya OP, Tong CYW, Hart CA, Pratt BC, Hughes S, Roberts P, Kirby P, Howel J, McCormick A, Goddard AD. Is Mycoplasma hominis a vaginal pathogen? Sex. Transm. Inf. 2001, 7: 58-62.

24. Cedillo-Ramirez L, Gil C, Zago I, Yanez A, Giono S. Association of Mycoplasma hominis and Ureaplasma urealyticum with some indicators of nonspecific vaginitis. Revista Latinoamericana de Microbiologia. 2000, 42: 1-6.

25. Domingues D, Tavira LT, Duarte A.Genital mycopasmas in women attending a family planning clinic in Guine-Bissau and their susceptibility to antimicrobial agents. Acta Tropica. 2003,86:19-24.

26. keane FE, Thomas BJ, Gilroy CB.The association of Mycoplasma hominis, Ureaplasma urealyticum, and Mycoplasma genitalium with bacterial vaginosis: Observations on hetrosexual women and their male partners. Int.J.STD.AIDS. 2000,11: 356-360.

27. Fourmaux S, and Bebear C. Urogenital infection linked to chlamydia and mycoplasmas. Prog.Urol. 1997,7: 132-136.

28. Odendaal HJ, Popov I, Schoeman J, Grore D. Preterm labour-is Mycoplasma hominis involved? S. Afr. Med. J. 2002, 92: 235-237.

29. Chua KB, Ngeow YF, Ng KB, Chye JK, Lim CT. Ureaplasma urealyticum and Mycoplasma hominis isolation from cervical secretions of pregnant women and nasopharyngeal secretions of their babies at delivery. Singapore Med J. 1998, 39: 300-302.

30. Zheng X, Olson DA, Tully JG, Watson HL, Cassell HG, Gustafson DR, Svien KA, Smith TF. Isolation of Mycoplasma hominis from a brain abscess. J. Clin. Microbiol. 1997, 35: 992-994.

Archive of SID

www.SID.ir