

شناسایی مولکولی مایکوپلاسمای هومینیس در ترشحات دستگاه تناسلی مردان نابارور مراجعه کننده به مرکز ناباروری کرمان

سمیرا وثوقی^{۱*}، بابک خیرخواه^۲، تورج رضا میرشکاری^۳، اشرف کریمی نیک^۴، سودابه حمیداوی محمدپور^۱، نعیمه محسنی مقدم^۵

^۱ کارشناس ارشد، گروه پژوهشی میکروب شناسی پاسارگاد، تهران، ^۲ استادیار، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد بافت، گروه میکروب شناسی،

^۳ استادیار، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، گروه پاتولوژی، ^۴ مریبی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرمان، دانشکده علوم پایه، گروه میکروب شناسی،

^۵ کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات سیرجان، گروه میکروب شناسی

چکیده

سابقه و هدف: مایکوپلاسماهای تناسلی اغلب با اثرات مخرب بر پارامترهای کیفی اسپرم می‌توانند موجب عقیمی و ناباروری در مردان گردند. این مطالعه با هدف جداسازی مایکوپلاسمای هومینیس از ترشحات دستگاه تناسلی مردان نابارور مراجعه کننده به مرکز ناباروری کرمان با روش واکنش زنجیره ای پلیمراز (PCR) انجام شده است.

مواد و روش‌ها: این پژوهش به صورت مقطعی-توصیفی از فروردین ماه ۱۳۹۱ تا شهریور ماه ۱۳۹۱ بر روی ۵۸ نمونه مایع منی جمع آوری شده از مردان نابارور مراجعه کننده به مرکز ناباروری کرمان انجام گردید. ناباروری تمامی نمونه‌ها با انجام اسپرم‌وگرام مورد تأیید قرار گرفت. پس از استخراج DNA، با استفاده از روش PCR و به کمک پرایمرهای اختصاصی جنس مایکوپلاسمای و گونه مایکوپلاسمای هومینیس مورد رדיابی قرار گرفت.

یافته‌ها: از مجموع نمونه‌های مورد بررسی، ۲۲ نمونه (۳۷/۹۳٪) آلدود به جنس مایکوپلاسمای و ۱۳ نمونه (۲۲/۴۱٪) آلدود به گونه مایکوپلاسمای هومینیس بودند. همچنین بیشترین آلدودگی به مایکوپلاسمای در گروه سنی ۲۹ تا ۳۸ سال مشاهده گردید.

نتیجه گیری: در این پژوهش برای اولین بار در کرمان مایکوپلاسمای از ترشحات دستگاه تناسلی مردان نابارور جداسازی گردید. نتایج به دست آمده در این مطالعه نشان داد که درصد بالایی از مردان نابارور و فاقد علایم بالینی، به این باکتری آلدود بوده اند.

واژگان کلیدی: مایکوپلاسمای هومینیس، مایع منی، واکنش زنجیره ای پلی مراز.

دریافت مقاله: مهر ماه ۹۱ **پذیرش برای چاپ:** بهمن ماه ۹۱

مقدمه

همچنین اگر زنی نتواند جنین را در رحم خود نگه دارد و آن را سقط نماید، نابارور محسوب می‌گردد. عوامل بسیار زیادی در ناباروری و نازایی دخالت دارند. نارسایی‌های فیزیکی، مشکلات هورمونی، عوامل ژنتیکی، محیطی و یا عفونی از مهم ترین این عوامل به شمار می‌آیند (۱). عفونت مجرای ادراری - تناسلی مردان، یکی از مهم ترین عوامل ناباروری می‌باشد (۲ و ۳). به طوری که ۸ تا ۳۵ درصد از موارد ناباروری مردان در سراسر جهان به این عفونت‌ها نسبت داده شده

امروزه عفونت دستگاه تناسلی یکی از علل مهم ناباروری در مردان به شمار می‌رود. ناباروری در مردان به معنی عدم توانایی باردار نمودن زوجه پس از یک سال آمیزش و در زنان به معنی عدم بارداری پس از این مدت زمان می‌باشد.

* آدرس برای مکاتبه: تهران، تهرانپارس، بین فلکه سوم و چهارم، کوچه آقا بزرگی (غربی)، پلاک ۲۷ واحد ۱۶

پست الکترونیک: s_vosoogh@yahoo.com

تلفن: ۰۹۱۲۸۴۴۵۶۱۰

شمار آید. در این امر استفاده از روش تشخیصی واکنش زنجیره ای پلیمراز (PCR) که حساسیت بالاتر و مطلوب تری نسبت به روش معمول کشت دارد، می‌تواند بسیار موثر واقع گردد (۱۲). هدف از این پژوهش جداسازی مایکوپلاسما هومینیس از ترشحات دستگاه تناسلی مردان نابارور مراجعه کننده به مرکز ناباروری کرمان با روش واکنش زنجیره ای پلیمراز (PCR) بود.

مواد و روش‌ها

(الف) نمونه گیری: در این مطالعه از فروردین ماه ۱۳۹۱ تا شهریور ماه ۱۳۹۱ به صورت مقطعي-توصيفي در مجموع ۵۸ نمونه مایع منی (Semen) از مردان نابارور مراجعه کننده به مرکز ناباروری کرمان جمع آوری و به ظروف استریل منتقل گردید. ناباروری تمامی نمونه‌ها با انجام اسپرم‌وگرام، به عنوان آزمایش معمول در مرکز ناباروری مورد تأیید قرار گرفت.

(ب) رسوب گیری: برای این منظور ابتدا تمامی نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در گرماخانه واجد ۵ درصد CO_2 و رطوبت قرار داده شدند. سپس ۱۰۰۰ میکرولیتر از نمونه به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۱۳۰۰۰ rpm سانتریفیوژ گردید. پس از حذف مایع روی رسوب باقی مانده نگهداری شد.

(ج) استخراج DNA: برای این منظور از کیت استخراج DNA از بافت و سلول شرکت سیناژن ایران استفاده گردید.

(د) انجام واکنش زنجیره ای پلیمراز: به منظور ردیابی جنس مایکوپلاسما از پرایمرهای GSO و MGSO و برای شناسایی گونه مایکوپلاسما هومینیس از پرایمرهای RNAH₁ و RNAH₂ استفاده گردید (۱۳) (جدول ۱).

در این مطالعه از DNA نمونه استاندارد باکتری مایکوپلاسما هومینیس (PG₂₁، به عنوان کنترل مثبت و از آب مقطر دو بار تقطیر استریل، به عنوان کنترل منفی استفاده گردید. واکنش PCR با حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل ۵/۷ میکرولیتر آب مقطر (عاری از نوکلئاز)، ۱۲/۵ میکرولیتر (2X) PCR Master mix (2X) و MgCl₂ ۰/۵٪ Taq DNA Polymerase حاوی آنزیم

است (۴). مطالعات مختلف در کشورهای توسعه یافته نشان داده است که عفونت‌های ناشی از مایکوپلاسماها (Mycoplasma) و اوره پلاسماهای (Ureaplasma) تناسلی می‌توانند به ناباروری و نازائی متنه گردد (۲). عفونت‌های ناشی از این باکتری‌ها اغلب بدون عالیم بالینی هستند و می‌توانند تأثیرات منفی بر سلامت تناسلی مردان داشته باشند (۵). به عنوان نمونه این باکتری‌ها می‌توانند موجب تأثیرات منفی بر حجم، pH، تحرک، مورفوژی، تعداد و قابلیت حیاتی اسپرم‌ها گردد (۲). از جمله این عفونت‌ها آلدگی با باکتری مایکوپلاسما هومینیس (Mycoplasma hominis) می‌باشد. این باکتری علاوه بر نقش مهمی که در بروز بیماری‌های التهابی لگن، واژینوز باکتریایی و غیره (۲ و ۷) ایفا می‌کند می‌تواند با اتصال به سر، دم و بخش میانی اسپرم‌ها (به منظور کسب استروژیدهای مورد نیاز خود)، موجب بی حرکت شدن اسپرم و حتی نفوذ به درون آن‌ها نیز گردد (۸). همچنین شواهد نشان می‌دهد که عفونت بدون عالیم بالینی ناشی از مایکوپلاسما و اوره پلاسما می‌تواند موجب سوء عملکرد غدد ضمیمه جنسی گردد. حضور این باکتری در مایع منی و یا مجرای تناسلی زنان می‌تواند در فرآیند لقادح خارج رحمی سبب افت و کاهش میزان حاملگی شود (۳ و ۹). در کشورهای در حال توسعه نقش این باکتری‌ها در ایجاد ناباروری هنوز به طور کامل مشخص نشده است (۱۰). مطالعات در سایر کشورها نشان می‌دهد که در صورت عدم تشخیص، پیشگیری و یا درمان مناسب عفونت‌های مایکوپلاسمایی، این باکتری‌ها می‌توانند به طور مستمر باقی مانده و منجر به عواقب خطرناکی مانند بیماری‌های التهابی لگن و ناباروری گردد (۱۱). در ایران مطالعات اندکی در زمینه تشخیص این باکتری‌ها در نمونه‌های مایع منی صورت گرفته است. در حالی که شناسایی این باکتری‌ها در مردان نابارور قادر عالیم بالینی از اهمیت بالایی برخوردار است و می‌تواند به عنوان بخش مهمی از برنامه کنترل بیماری‌های منتقله از راه تماس جنسی (STD) به

یافته‌ها

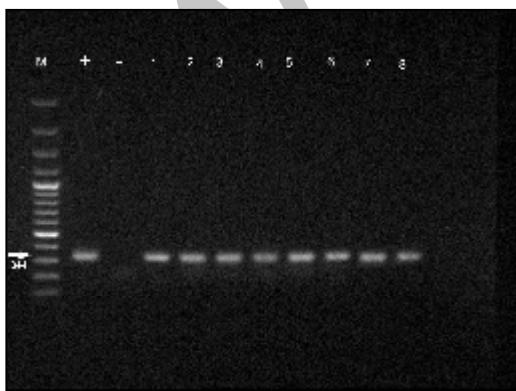
نتایج به دست آمده از الکتروفورز محصولات PCR، حضور باندهای ۱۶۳ و ۳۴۴ جفت بازی در نمونه‌های مورد بررسی را نشان داد. این باندهای اختصاصی به ترتیب نشان دهنده جنس مایکوپلاسما و گونه مایکوپلاسما هومینیس می‌باشدند (شکل‌های ۱ و ۲). در این پژوهش از ۵۸ نمونه منی مردان نابارور مراجعه کننده به مرکز ناباروری کرمان، ۲۲ نمونه (٪۲۲/۴۱) آلوده به جنس مایکوپلاسما و ۱۳ نمونه (٪۳۷/۹۳) آلوده به گونه مایکوپلاسما هومینیس بودند. به عبارت دیگر حدود ۵۹ درصد از افرادی که آلودگی مایکوپلاسما بی مایع منی آنها مورد تأیید قرار گرفته بود به گونه مایکوپلاسما هومینیس آلوده بودند.

افراد مورد بررسی در این مطالعه در گروه سنی ۱۹ تا ۴۸ سال

(۴ میلی مول بر لیتر) و dNTPs (۴ میلی مول بر لیتر)، ۱ میکرولیتر از هر پرایمر و ۳ میکرولیتر DNA الگو انجام گردید. در ادامه واکنش PCR با شرایط دمایی ۶ دقیقه و اسرشت شدن ابتدایی در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد و در ادامه ۳۳ چرخه شامل و اسرشت شدن در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۱ دقیقه، اتصال در دمای ۵۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱ دقیقه، طویل شدن در دمای ۷۰ درجه سانتی گراد به مدت ۱ دقیقه و در نهایت طویل شدن نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۷ دقیقه انجام شد (۱۴). محصولات PCR به ژل آگاروز ۱ درصد واحد اتیدیوم برماید منتقل و الکتروفورز گردیدند. باندهای ایجاد شده پس از انتقال به دستگاه پرتوتاب ماورای بنسش (UV Transiluminator) مشاهده و تصاویر حاصل ثبت گردیدند.

جدول ۱: توالی‌های نوکلئوتیدی و آغازگرهای مورد استفاده در تشخیص مایکوپلاسما هومینیس به روش PCR

پرایمر	ژن هدف	توالی' ۳'-> ۵'	اندازه (جفت باز)
GSO	16S rRNA	F: 5- GGGAGCAACAGGATTAGATACCCT -3	۱۶۳
		R: 5- TGCACCATCTGTCACTCTGTTAACCTC -3	۳۴۴
MGSO	RNA H1	F: 5- CAATGGCTAATGCCGGATACGC -3	
		R: 5- GGTACCGTCAGTCTGCAAT -3	
RNA H2	16S rRNA		



شکل ۲: تصویر الکتروفورز محصول PCR با استفاده از پرایمر اختصاصی گونه مایکوپلاسما هومینیس. (M) مارکر ۱۰۰ جفت بازی. (+) کنترل مثبت. (-) کنترل منفی. ستون‌های ۱ تا ۸ نمونه‌های حاوی گونه مایکوپلاسما هومینیس (۳۴۴ جفت باز).



شکل ۱: تصویر الکتروفورز محصول PCR با استفاده از پرایمر اختصاصی جنس مایکوپلاسما. (M) مارکر ۱۰۰ جفت بازی. (+) کنترل مثبت. (-) کنترل منفی. ستون‌های ۱ تا ۸ نمونه‌های حاوی جنس مایکوپلاسما (۱۶۳ جفت باز).

بنابراین باکتری به میزان کمتری تحت تأثیر مراحل نمونه برداری و انتقال قرار می‌گیرد. از طرف دیگر کشت مایکوپلاسماها در شرایط مطلوب بیش از چند روز به طول خواهد انجامید و به محیط‌های بسیار اختصاصی همراه با مکمل‌های غذایی نیاز می‌باشد. اما در روش PCR می‌توان در کمتر از چند ساعت چندین نمونه را به طور هم زمان مورد ارزیابی قرار داد (۱۹ و ۲۰). با توجه به مطالب یاد شده، در مطالعه حاضر به منظور تشخیص عفونت‌های مایکوپلاسماهی در ترشحات، از روش PCR استفاده گردید. این روش به دلیل دقیق، حساس و سریع بودن می‌تواند در ادامه تست‌های معمول اسپرم‌ogram افراد نابارور، به منظور شناسایی مایکوپلاسماهای تناسلی مورد استفاده قرار گیرد. در مطالعه ای که نجار پیرایه (Najar Pirayeh) و همکاران در سال ۲۰۰۷ با هدف مقایسه دو روش آزمایشگاهی PCR و کشت بر روی نمونه‌های مایع منی مردان نابارور انجام دادند، تأیید گردید که حساسیت روش PCR نسبت به روش کشت بسیار بیشتر می‌باشد. نتایج آن‌ها نشان داد که حساسیت روش‌های PCR و کشت به ترتیب ۹۱/۸ درصد و ۵۳ درصد بوده است (۱۹).

سرین (Serin) و همکاران نیز در سال ۲۰۰۱ به نتیجه‌ای مشابه در ارتباط با روش‌های شناسایی مایکوپلاسماهای تناسلی دست یافته‌اند (۲۱).

مایکوپلاسماهایی مانند مایکوپلاسما هومینیس با ایجاد عفونت‌های بدون علامت و به دنبال آن عدم مراجعه به بیمار به پزشک، موجب پیشرفت بیماری‌های مجاری ادراری-تناسلی، آسیب عملکرد اسperm و تخریب آن، تنگی مجاری سمتینالی و در نهایت ایجاد ناباروری می‌گردد (۲۲). در پژوهش جاری از ۵۸ نمونه منی مردان نابارور مراجعه کننده به مرکز ناباروری کرمان، ۲۲ نمونه (۳۷/۹۳٪) آلوده به جنس مایکوپلاسما و ۱۳ نمونه (۴۱٪) آلوده به گونه مایکوپلاسما هومینیس بودند. نکته قابل توجه این است که تمامی افراد مورد بررسی در این مطالعه به جز ناباروری، فاقد هر نوع علایم بالینی دیگری بودند. این امر اهمیت مایکوپلاسماها را در ایجاد عفونت‌های مخفی به خوبی نشان می‌دهد. قاضی سعیدی (Ghazi Saeedi) و

قرار داشتند. نتایج به دست آمده در این مطالعه نشان داد که بیشترین آلودگی مایکوپلاسما (جنس و گونه) مربوط به گروه سنی ۲۹ تا ۳۸ سال بوده است (جدول ۲).

جدول ۲: فراوانی نمونه‌های مورد بررسی بر اساس گروه سنی.

گروه سنی (سال)	جنس مایکوپلاسما	گونه مایکوپلاسما هومینیس
۱۹ - ۲۸	(۰/۳۱/۷۹٪) ۸	(۰/۸۶۲٪) ۵
۲۹ - ۳۸	(۰/۱۸/۹۷٪) ۱۱	(۰/۱۰/۳۴٪) ۶
۳۹ - ۴۸	(۰/۵/۱۷٪) ۳	(۰/۳/۴۵٪) ۲
جمع	(۳۷/۹۳٪) ۲۲	(۲۲/۴۱٪) ۱۳

بحث

عفونت‌های مایع منی، به خصوص عفونت‌های مایکوپلاسماهایی، یکی از عوامل مهم ناباروری در مردان به شمار می‌آیند. با این وجود تاکنون این پارامتر به جز در شهرهای اهواز، گرگان و تهران (۱۵-۱۷) در هیچ یک از مراکز ناباروری ایران، به عنوان عامل مؤثر در ناباروری مردان مورد بررسی قرار نگرفته است. در این پژوهش برای اولین بار در استان کرمان آلودگی مایکوپلاسماهی در مایع منی مردان نابارور مورد ارزیابی قرار گرفت. همچنین به طور اختصاصی مایکوپلاسما هومینیس به عنوان یکی از عوامل عفونی در ترشحات تناسلی جداسازی گردید. موقیت دیگر این پژوهش، آماده سازی آزمایشگاه مرکز ناباروری دانشگاه علوم پزشکی کرمان به منظور جداسازی انواع مایکوپلاسماهای تناسلی به ویژه مایکوپلاسما هومینیس بود.

باکتری مایکوپلاسما به دلیل فقدان دیواره سلولی، به شرایط محیطی مانند pH، دما و ترکیبات موجود در محیط کشت بسیار حساس می‌باشد. به همین دلیل هنگام نمونه برداری و یا انتقال به آزمایشگاه ممکن است باکتری ضعیف شده، از بین برود و یا در محیط‌های کشت قابل بازیابی نباشد (۱۸). بنابراین روش معمول کشت باکتریایی در مقایسه با روش‌های مولکولی مانند PCR روشی پر هزینه، زمان بر، مشکل و دارای حساسیت پایین می‌باشد. این در حالی است که در روش PCR برای انجام آزمایش به باکتری زنده نیاز نمی‌باشد.

سنی ۲۹ تا ۳۸ سال بوده است. در مطالعه احمدی (Ahmadi) و همکاران بیشترین میزان آلدگی به مایکوپلاسما در افراد ۳۴ تا ۴۳ سال مشاهده گردید (۲). این یافته با نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر هم خوانی دارد و نشان دهنده جداسازی بیشتر باکتری از افرادی است که در سنین فعال از نظر جنسی قرار دارند.

نتیجه گیری

با توجه به یافته‌های این مطالعه، درصد نسبتاً بالایی از مردان نابارور در کرمان دارای عفونت مایکوپلاسمایی بوده اند. از آنجایی که حضور مایکوپلاسماها در مجاری ادراری-تناسلی افراد مورد بررسی، بدون علامت بالینی بوده است، لذا غربالگری میکروبی مردان و زوج‌های نابارور به ویژه در سنین جوانی، ضروری به نظر می‌رسد. آگاهی دادن به افراد جامعه درباره خطرات عفونت‌های ادراری-تناسلی و راه‌های حفاظت از سلامت جنسی می‌تواند بخش مهمی از برنامه کنترل بیماری‌های منتقله از راه تماس جنسی به شمار آید.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از تمامی کارکنان مرکز ناباروری کرمان به دلیل همکاری صمیمانه در اجرای این پژوهش کمال امتنان را دارند.

همکاران در سال ۲۰۰۸ موفق به جداسازی مایکوپلاسما از نمونه قطرات اولیه ادرار (۱۲٪) و نمونه ترشحات پروستات (۶٪) در مردان بارور مبتلا به عفونت ادراری شدند (۲۳). این یافته با نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر هم خوانی ندارد. شاید بتوان علت تفاوت فراوانی مایکوپلاسما در این دو پژوهش را به تفاوت در نوع نمونه‌ها و افراد مورد بررسی نسبت داد. امیر مظفری (Amir Mozaffari) و همکاران در سال ۲۰۰۸ با هدف جداسازی مایکوپلاسما اقدام به کشت مایع منی مردان نابارور نمودند. این محققان در مطالعه خود، میزان آلدگی نمونه‌های مورد بررسی به مایکوپلاسما هومینیس را ۲/۳ درصد گزارش کردند (۲۴). این میزان شیوع بسیار کمتر از نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر می‌باشد. علت این اختلاف را می‌توان تفاوت در حساسیت و دقت روش‌های به کار رفته در دو پژوهش (PCR در مقایسه با کشت) دانست. احمدی (Ahmadi) و همکاران نیز در سال ۲۰۱۰، میزان آلدگی مایع منی مردان نابارور به مایکوپلاسما هومینیس را با روش PCR برابر با ۵/۱۵ درصد گزارش نمودند (۲). دومینگوس (Domingus) و همکاران در سال ۲۰۰۳ در کانادا شیوع مایکوپلاسماهای تناسلی را با روش کشت بیش از ۵٪ اعلام نمودند (۲۵). همچنین در مطالعات انجام شده در سایر کشورها، میزان جداسازی مایکوپلاسما هومینیس، بین ۵ تا ۱۳ درصد گزارش شده است (۲۶). شاید بتوان دلیل افزایش فراوانی مایکوپلاسماهای تناسلی در این بررسی‌ها را به عوامل فرهنگی و اجتماعی رایج در سایر کشورها نسبت داد. بخششده نصرت (Bakhshande Nosrat) و همکاران در سال ۲۰۰۹ در گرگان فراوانی مایکوپلاسماهای تناسلی را در زنان مبتلا به عفونت تناسلی ۸/۱۲ درصد و فراوانی مایکوپلاسما هومینیس را ۷/۷ درصد گزارش نمودند (۱۶). میزان شیوع پایین این باکتری در زنان مورد بررسی در گرگان، کمتر از حد انتظار بود.

در پژوهش جاری بین گروه سنی افراد مورد مطالعه و نتایج حاصل از PCR، ارتباط معناداری مشاهده نشد. با این وجود بیشترین آلدگی مایکوپلاسما (جنس و گونه) مربوط به گروه

References

1. Zhang ZH, Zhang HG, Dong Y, Han RR, Dai RL, Liu RZ. Ureaplasma urealyticum in male infertility in Jilin province, Northeast china, and its relationship with sperm morphology. *J Int Med Res.* 2011; 39(1): 33-40.
2. Ahmadi M, Amir Mozaffari N, Kazemi B, Sedighi Gilani M, Masjedian Jazi F. Detection of *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* in semen of infertile men referred to Royan Institute by PCR method in 2010. *Medical Journal of Cell.* 2010; 12(3): 371-380. [In Persian]
3. AL-Daghistani HI, Abdel-Dayem M. Clinical significance of asymptomatic urogenital *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* in relation to seminal fluid parameters among infertile Jordanian males. *Middle East Fertility Society Journal.* 2010; 15(1): 29-34.
4. Askienazy-Elbhar M. Male genital tract infection: the point of view of the bacteriologist. *Gynecol Obstet Fertil.* 2005; 33(9): 691-697.
5. Winn Jr. W, Allen S, Janda W, Koneman E, Procop G, Schreckenberger P, Woods G. *Mycoplasma* and *Ureaplasma*. In: Konemans color atlas and textbook of diagnostic microbiology. 6 ed, USA Lippincott Williams and Wilkins. Wolters Kluwer Company, 2006; 1028-1033.
6. Lu MG, Shi JL, Xu C. Establishment and application of the approach to detecting two biovars of *Ureaplasma urealyticum* organisms in human semen. *Zhonghua Nan Ke Xue.* 2005, 11(3): 175- 184.
7. Larsen B, Hwang J. *Mycoplasma*, *Ureaplasma*, and adverse pregnancy outcomes: a fresh look. *Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology.* 2010; 2010: 1-7.
8. Diaz-Garcia FJ, Herrera-Mendoza AP, Giono-Cerezo S, Guerra-Infante FM. *Mycoplasma hominis* attaches to and locates intracellularly in human spermatozoa. *Home Report.* 2006; 21 (6): 1591-1598.
9. Bayraktar MR, Ozerol IH, Gucluer N, Celik O. Prevalence and antibiotic susceptibility of *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* in pregnant women. *Int J Infect Dis.* 2010; 14(2): 90-95.
10. Gdoura R, Kchaou W, Ammar Keskes L, Chakronn N, Sellemi A, Znazen A, Rebai T and Hammami A. Assessment of *chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Ureaplasma pravum*, *Mycoplasma hominis* and *Mycoplasma genitalium* in semen and first void urine specimens of asymptomatic male partners of Infertile couples. *J Andrology.* 2008; 29(2): 198-206.
11. Pacey AA, Eley A. *Chlamydia trachomatis* and male fertility. *Hum Fertil (Camb).* 2004; 7 (4): 271-276.
12. Sakhaei D, Pourbakhsh SA, Banani M, Lotfi M, Akhlaghi F, Asli E. Using PCR and culture method for *Mycoplasma* testing in poliomyelitis vaccine. *Arch Razi Ins.* 2009, 64(2): 109-114.

13. Najar Pirayeh Sh, Al Yasin A. Comparison of PCR with culture for detection of *Mycoplasma hominis* in infertile women. Kowsar Medical Journal. 2005; 10(3): 183-190. [In Persian]
14. Kheirkhah B, Pourbakhsh SA, Nadalian MG, Banani M, Ashtari A. Detection on *Mycoplasma agalactiae* by culture and polymerase chain reaction (PCR) methods from Iranian goats. Afr J Microbiol Res. 2011; 5(13): 1668-1672.
15. Amir Mozaffari N, Sedighi Gilani M, Kazemi B, Masjedian Jazi F. Presence of *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* in semen of infertile men referred to Royan institute in 2008. Journal of Iran Medical Sciences. 2009; 17(71): 14-25. [In Persian]
16. Bakhshande Nosrat S, Ghazi Saeedi K, Livani S, Dadgar T, Bazori M, Bagheri H, Behnam pour N, Ghaemi A. Frequency of genital *Mycoplasmas* in vaginal infections in Gorgan city. Journal of Obstetrics, Gynecology and Infertility Iran. 2009, 20-28. [In Persian]
17. Mousavian S, Motamedi H, Maleki S, Shahbazian N. Frequency *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* in women with urinary genital tract infections techniques using multiplex PCR and culture methods. Medical Journal of Tabriz Medical Sciences University. 2011; 33(5): 91-97. [In Persian]
18. Najar Pirayeh Sh, Samimi R. Detection of *Mycoplasma hominis* with PCR in endocervical samples from infertile women. Journal of Daneshvar Medical Science Research. 2006; 14 (66): 63-68. [In Persian]
19. Najar Pirayeh Sh, Zeyghami H, Farshchian M, Otoofi J. Comparison of PCR with culture for detection of *Ureaplasma urealyticum* in genital samples of infertile men. Hakim Research Journal. 2007; 10(3): 48-53. [In Persian]
20. Yoon BH, Romero R, Kim M, Kim EC, Kim T, Park JS, Jun JK. Clinical implications of detection of *Ureaplasma urealyticum* in the amniotic cavity with the Polymerase chain reaction. Am J Obstet Gynecol. 2000; 183(5):1130-1137.
21. Serin MS, Evruke C, Kibar F, Koksal F. Comparison of PCR and cultivation methods to determine the incidence of infections due to *Mycoplasma hominis*, and *Mycoplasma fermentans* in women genitourinary tract. Eastern J Med. 2001; 6(2): 48-52.
22. Andrade-Rocha FT. *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis* in men attending for routine semen analysis. Prevalence, incidence by age and clinical setting, influence on sperm characteristics, relationship with the leukocyte count and clinical value. Urol Int. 2003; 71(4): 377-381.
23. Ghazi Saeedi K, Fatemi Nasab F, Vatani Sh, Azimi Y, Bakhshande Nosrat S, Mohamadi M. Compare two methods prostatic massage and urine initial drop sample in isolates of *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* in urinary tract. Journal of Laboratory Medicine. 2008; 2(1): 15-18. [In Persian]

24. Amir Mozafari N, Jadi F, Masjedian F, Haghghi L. Prevalence of *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* in the genital infections. Journal of Iran Medical Sciences. 2008; 15 (60-61): 19-24. [In Persian]
25. Domingus D, Tavira LT, Duarte A, Sanca A, Prieto E, Exposito F. Genital *Mycoplasma* in women attending a family planning clinic in Guine-Bissau and their susceptibility to antimicrobial agents. Acta Trop. 2003; 86(1): 19-24.
26. Rodriguez R, Hernandez R, Fuster F, Torres A, Prieto P, Alberto J. Genital infection and infertility. Enferm Infect Microbiol Clin. 1994; 19(6): 261-266.

Molecular detection of *Mycoplasma hominis* from genital secretions of infertile men referred to the Kerman infertility center

Samira Vosooghi¹, Babak Kheirkhah², Touraj-Reza Mir-shekari³, Ashraf Karimi Nik⁴, Soudabeh Hamidavi Mohammadpour¹, Naeimeh Mohseni Moghadam⁵

¹ M.Sc., Pasargad Microbiology Research Group, Tehran, Iran

² Assistant Professor, Department of Microbiology, Baft Branch, Islamic Azad University, Baft, Iran

³ Assistant Professor, Department of Pathology, Kerman University of Medical Science, Kerman, Iran

⁴ M.Sc., Department of Microbiology, Kerman Branch, Islamic Azad University, Kerman, Iran

⁵ M.Sc., Department of Microbiology, Sirjan Science and Research Branch, Islamic Azad University, Sirjan, Iran

Abstract

Background and Objectives: Mycoplasmal genital infections are often associated with devastating effects on quality of sperms, leading to male infertility. The aim of this study was to isolate *Mycoplasma hominis* from genital secretions of infertile men referred to the Kerman Infertility Center based on PCR method.

Material and Methods: In this cross-sectional study, 58 semen samples were collected from the infertile men who were referred to the Infertility Center of Kerman from May 2012 to September 2012. Infertility condition was confirmed in all samples by performing a semen analysis. After genomic DNA extraction, DNAs were examined by PCR and the primers specific for both the genus *Mycoplasma* and species *Mycoplasma hominis*.

Results: Overall, 22 samples (37.93%) were detected as Mycoplasml infection, among them 13 samples (22.41%) belonged to *Mycoplasma hominis*. Also, most of the Mycoplasmal infection were detected in the age group of 29 to 38 years.

Conclusion: For the first time in Kerman, we could isolate *Mycoplasma hominis* from genital secretions of infertile men. The study showed that a relatively high percentage of asymptomatic infertile men were infected with this bacterium.

Keywords: *Mycoplasma hominis*, Infertility, Polymerase Chain Reaction.

Correspondance to: Samira Vosooghi

Tel: +989128445610

E-mail: s_vosoogh@yahoo.com

Journal of Microbial World 2013, 6(1): 14-22.