مجله دنیای میکروب‌ها
سال هفتم شماره سوم (پیاپی ۲۰) پاییز ۱۳۹۳
صفحات ۲۴۰-۲۳۳

Original Article

جداسازی و بررسی هویت مولکولی *مایکوپلاسما هومینیس* دستگاه تناسلی زنان و مردان نابارور در کرمان

سمانه جمالیزاده بهاآبادی[۱]، بابک خیرخواه*[۲]، علیرضا فارسی نژاد[۳]، ویکتوریا حبیب زاده[۴]

[۱] کارشناس ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات سیرجان، گروه میکروب شناسی، [۲] استادیار، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات کرمان، گروه میکروب شناسی، [۳] استادیار، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، گروه علوم پایه، [۴] استادیار، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، گروه زنان و مامایی.

چکیده

سابقه و هدف: *مایکوپلاسما*ها یکی از عوامل میکروبی ناباروری در انسان می باشند. *مایکوپلاسما*های تناسلی اثرات مخربی بر اندام های تناسلی داشته و موجب اختلالات باروری و مرگ نوزادان می گردند. این مطالعه با هدف تعیین هویت مولکولی *مایکوپلاسما هومینیس* جدا شده از دستگاه تناسلی زنان و مردان نابارور در کرمان انجام شد.

مواد و روش ها: این مطالعه به صورت توصیفی بر روی ۱۰۰ زن و ۱۰۰ مرد نابارور مراجعه کننده به مرکز ناباروری کرمان به مدت ٦ ماه به صورت هدف دار انجام شد. نمونه های مایع منی و سواپ واژینال برای بررسی وجود *مایکوپلاسما هومینیس* با روش واکنش زنجیره ای پلی مراز مورد آزمایش قرار گرفتند. محصول PCR نمونه های مثبت برای تعیین هویت مولکولی انتخاب گردیدند. همردیف کردن توالی نمونه ها با استفاده از نرم افزار MEGA 5 و با روش Neighbor-joining انجام گرفت.

یافته ها: در این مطالعه ٤٥ درصد از نمونه های مردان آلوده به جنس *مایکوپلاسما* بودند. از این میان فراوانی گونه *مایکوپلاسما هومینیس* ۳۳ درصد بود. همچنین ٤۳ درصد از نمونه های زنان آلوده به جنس *مایکوپلاسما* بودند. از این میان فراوانی گونه *مایکوپلاسما هومینیس* ٤۱/۸ درصد بود. آنالیز توالی های *مایکوپلاسما هومینیس* های جدا شده نشان داد که جدایه ها در ۵ دودمان کاملاً مجزا قرار می گیرند.

نتیجه گیری: در این پژوهش *مایکوپلاسما هومینیس* به عنوان مهم ترین عامل میکروبی *مایکوپلاسمایی* ناباروری در جامعه آماری مورد مطالعه مطرح بود. تجزیه و تحلیل توالی نوکلئوتیدی جدایه ها، تشابه ژنوتیپی بسیار ناچیزی را بین برخی از جدایه ها نشان داد. در نتیجه می توان این جدایه ها را در گروه های متفاوت به عنوان سویه بومی ایران طبقه بندی نمود.

واژگان کلیدی: *مایکوپلاسما هومینیس*، ناباروری، هویت مولکولی، *16S rRNA*.

دریافت مقاله: آذر ماه ۹۲ پذیرش برای چاپ: اسفند ماه ۹۲

Archive of SID

مقدمه

ناباروری در مردان به معنی عدم توانایی در باردار نمودن زوجه پس از یک سال آمیزش و در زنان عدم بارداری پس از این مدت می باشد. همچنین اگر زنی نتواند جنین را در رحم خود نگه دارد و آن را سقط نماید، نابارور به شمار می‌آید. گاهی در زنان واژه نازایی را به جای ناباروری به کار می‌برند که تقریباً ۱۰ تا ۱۵ درصد زوجین را در طول سنین باروری مبتلا می کند (۱). عوامل دخیل در ناباروری انسان عفونت های میکروبی (۲۵٪)، عوامل هورمونی، ژنتیکی و محیطی (۵۰٪) و عوامل ناشناخته (۲۵٪) می باشند (۲). عوامل عفونی قادرند با درگیر نمودن مستقیم بخش های مختلف دستگاه تناسلی بر

*) آدرس برای مکاتبه: کرمان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات کرمان، گروه میکروب شناسی. تلفن: ۰۹۱۳۳٤٥٤۷۸۷ پست الکترونیک: b.kheirkhah@srbiau.ac.ir

www.SID.ir

عملکرد و توانایی های این دستگاه تأثیرگذاشته و مانع باروری یا ادامه موفق آن شوند و یا با القا اثرات سیستمیک خود قدرت باروری را کاهش دهند. پس از ابتلای به عفونت، خطر ناباروری به طور مستقیم به سن بیمار، تعداد دفعات قبلی عفونت، شدت بیماری در هنگام شروع درمان و فاصلهٔ زمانی از شروع علائم تا شروع درمان بستگی دارد. با هر بار تکرار عفونت، بر این خطر افزوده می شود (۳).

اهمیت و نقش مایکوپلاسماهای تناسلی در بروز عفونت های دستگاه تناسلی زنان و عوارض حاصل از آنها مشخص شده است (٤). باکتری هایی مانند *مایکوپلاسما هومینیس* (*Mycoplasma hominis*) و *اوره آ پلاسما اوره آ لیتیکوم* (*Ureaplasma urealyticum*) میکروب های بسیار شایعی هستند که موجب بروز عفونت های مجاری ادراری-تناسلی در مردان و زنان می گردند (۵). این عفونت ها در مردان باعث کاهش تعداد اسپرم و کاهش قابلیت حرکت اسپرم ها شده و درصد اسپرم های غیر طبیعی را افزایش می دهند. همچنین این عفونت ها سبب سقط جنین نیز می گردند (٦). مطالعات نشان داده اند که روش PCR برای تشخیص *مایکوپلاسما هومینیس* در نمونه های تناسلی، حساس، اختصاصی، آسان و سریع می باشد (۷ و ۸). همچنین درصد نسبتاً بالایی از مردان نابارور به *مایکوپلاسما هومینیس* و *اوره آ پلاسما اوره آ لیتیکوم* آلوده بوده اند (۹ و ۱۰). در حال حاضر درمان ناباروری از هزینه بالایی برخوردار است و مصرف داروهای هورمونی برای تخمک گذاری و فرآیندهای دیگر روش های کمک باروری عوارض جانبی را در بردارند. بنابراین در ناباروری های عفونی می توان با تشخیص و درمان آنتی بیوتیکی به موقع از این موارد نیز جلوگیری نمود.

هدف از این مطالعه جداسازی و تعیین هویت مولکولی *مایکوپلاسما هومینیس* از دستگاه تناسلی زنان و مردان نابارور مراجعه کننده به مرکز ناباروری کرمان در سال ۱۳۹۲ بود.

مواد و روش ها

الف) جمع آوری نمونه: در این مطالعه توصیفی ۲۰۰ نمونه به صورت هدفمند از زنان و مردان مراجعه کننده به مرکز ناباروری کرمان در شش ماهه اول سال ۱۳۹۲ به صورت زیر جمع آوری گردید:

۱- ۱۰۰ نمونه مایع منی با معیارهای غیرطبیعی اسپرموگرام بر اساس استانداردهای سازمان بهداشت جهانی (WHO)، مربوط به مردان نابارور اخذ و تا زمان استخراج DNA در دمای ۲۰- درجه سیلیسیوس نگهداری شدند.

۲- تعداد ۱۰۰ نمونه از سواپ واژینال زنان نابارور توسط ماما جهت انجام آزمایشات معمول ناباروری جمع آوری شد. نمونه ها در محلول PBS به صورت کامل حل شدند و تا زمان استخراج DNA در دمای۲۰- درجه سیلیسیوس نگهداری شدند.

ب) استخراج DNA: مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از هر یک از نمونه به درون میکروتیوب اضافه و به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۱۳۰۰۰ g سانتریفوژ گردیدند. رسوب حاصل برای استخراج DNA نگه داشته شد. به منظور استخراج DNA باکتری از کیت تخلیص مربوط به شرکت سیناژن (CinnaPure-DNA) و مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده استفاده گردید. DNA تخلیص شده در دمای ۲۰- درجه سیلیسیوس قرار گرفت.

ج) واکنش زنجیره ای پلی مراز (PCR): برای این منظور از Master mix شرکت سیناژن که حاوی آنزیم Taq polymerase

جدول ۱: توالی آغازگرهای مورد استفاده در تشخیص *مایکوپلاسما هومینیس* (۱۱).

پرایمر	ژن هدف	توالی ۵'--۳'	اندازه (جفت باز)
GSO	*16S rRNA*	F: 5'-GGGAGCAAACAGGATTAGATACCCT -3'	۱٦۳
MGSO		R: 5'-TGCACCATCTGTCACTCTGTTAACCTC -3'	
RNA H1	*16S rRNA*	F: 5'-CAATGGCTAATGCCGGATACGC-3'	۳٤٤
RNA H2		R:5'-GGTACCGTCAGTCTGCAAT-3'	

Archive of SID

www.SID.ir

(۰/۵ واحد بین المللی بر لیتر)، $MgCl_2$ (٤ میلی مول بر لیتر) و dNTP ها (٤ میلی مول بر لیتر) بود استفاده گردید. به منظور شناسایی جنس *مایکوپلاسما* و گونه *مایکوپلاسما هومینیس* از آغازگرهای اختصاصی که در جدول ۱ نشان داده شده است استفاده شد. در این پژوهش از آب مقطر به عنوان کنترل منفی و از سویه استاندارد ATCC 23114 به عنوان کنترل مثبت استفاده گردید.

در ادامه واکنش PCR در دستگاه ترموسایکلر مستر سایکلر گرادیانت (اپندرف، آلمان) با شرایط دمایی ٦ دقیقه واسرشت شدن ابتدایی در دمای ٩٤ درجه سیلیسیوس و در ادامه ۳۳ چرخه شامل واسرشت شدن در دمای ٩٤ درجه سیلیسیوس به مدت یک دقیقه، اتصال در دمای ٥٥ درجه سیلیسیوس به مدت یک دقیقه، طویل شدن در دمای ٧٠ درجه سیلیسیوس به مدت یک دقیقه و در نهایت طویل شدن نهایی در دمای ٧٢ درجه سیلیسیوس به مدت ٧ دقیقه انجام شد (۱۰).

د) تعیین توالی: به منظور تعیین توالی نوکلئوتیدی، محصولات PCR خالص سازی شده به شرکت Bioneer کشور کره جنوبی ارسال گردیدند. تعیین توالی دو طرفه (Bidirectional) با آغازگرهای جلودار و برگشتی برای نمونه انجام شد. در پایان برای هر نمونه دو توالی به دست آمد. هم ردیف کردن چندگانه (Multiple Alignment) توالی ها با استفاده از نرم افزار Bio Edit به روش Clustal W صورت گرفت. توالی های نوکلئوتیدی نمونه ها با استفاده از نرم افزار MEGA 5 با یکدیگر مقایسه گردیدند.

با استفاده از همین نرم افزار، ماتریکس شباهت ها در Excel نمایش داده شد. با استفاده از نرم افزار MEGA 5 بر اساس روش Neighbor-joining و با Bootstrap 1000 درخت فیلوژنتیک نمونه ها رسم و تجزیه و تحلیل گردید. در ادامه توالی به دست آمده برای حصول اطمینان از اختصاصی بودن با سایر توالی های *مایکوپلاسما هومینیس* موجود در بانک ژن سایت NCBI مقایسه گردیدند. با استفاده از نرم افزارهای یاد شده ماتریکس شباهت جدایه این پژوهش با جدایه های سایر نقاط جهان ثبت شده در بانک ژن ترسیم گردید. سپس درخت فیلوژنتیک نمونه ها رسم شد.

یافته ها

ابتدا نمونه هایی که از نظر جنس *مایکوپلاسما* مثبت بودند جداسازی گردیدند. برای تعیین گونه *مایکوپلاسما هومینیس* نمونه های مثبت تحت واکنش PCR قرار گرفتند. تشکیل باند ٣٤٤ bp بر روی ژل آگاروز نشان دهنده گونه های مثبت *مایکوپلاسما هومینیس* بود. در این مطالعه از مجموع ۱۰۰ نمونه به دست آمده از مردان نابارور، در ٤٥ مورد (٤٥٪) جنس *مایکوپلاسما* تأیید گردید. از این تعداد ۱۵ مورد (۳۳ درصد) آلوده به *مایکوپلاسما هومینیس* بودند. همچنین از مجموع ۱۰۰ نمونه به دست آمده از زنان نابارور، در ٤۳ مورد (٤۳٪) جنس *مایکوپلاسما* تأیید گردید. از این تعداد ۱۸ مورد (٤۱/۸ درصد) آلوده به گونه *مایکوپلاسما هومینیس* بودند.

با استفاده از توالی های موجود، درخت فیلوژنیک بر اساس روش Neighbor-joining و با به کارگیری نرم افزار MEGA5 تهیه گردید. نتایج مربوط به هم ردیف سازی که بر اساس توالی سویه ATCC 23114 تنظیم شده است، نشان می دهد که

جدول ۲: مشخصات *مایکوپلاسما هومینیس* های انتخاب شده از بانک جهانی ژن به منظور آنالیز فیلوژنتیک.

نام کشور	شماره دسترسی
ایالات متحده آمریکا	JN673565, JQ960910, GU419506, JN935871
دانمارک	AJ002269, AJ002267, AJ002266, AJ002265
روسیه	EU443622, EU443621 ،EU443620 ،EU443619 ،EU443618
انگلستان	FJ999929, FJ999926, FJ999924
چین	M96660
ژاپن	AB680681

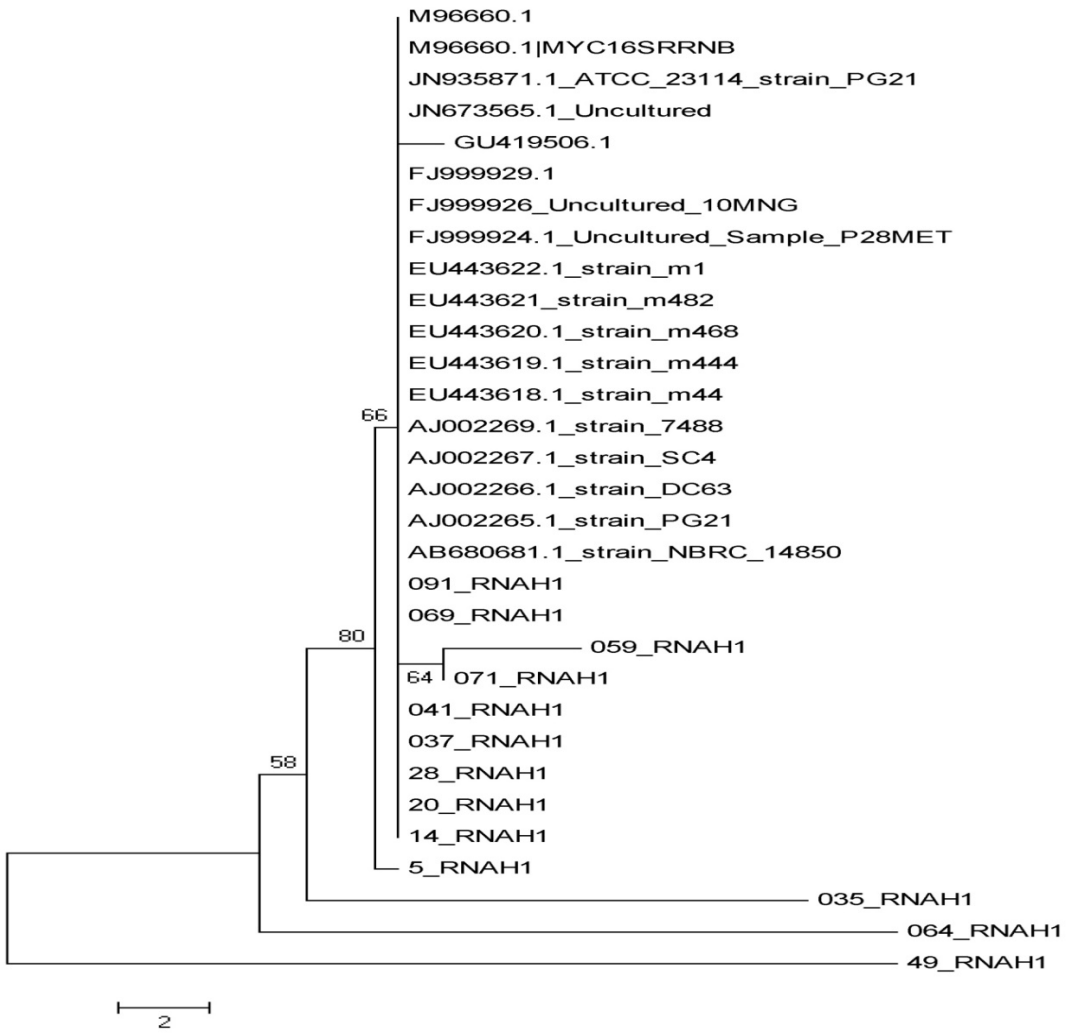
Archive of SID
www.SID.ir

مایکوپلاسماهومینیس های جدا شده در این پژوهش از نظر ژنتیکی در ۵ دودمان کاملاً مجزا واقع شده اند. همچنین میان جدایه های هر ۵ دودمان باکتری، تشابه ناچیزی وجود دارد. جدایه های ۰٦۹، ۰۹۱ با جدایه های موجود در بانک ژن که از لحاظ جغرافیایی در کشورهای ژاپن، دانمارک، روسیه و انگلیس جدا شده اند تشابه ژنتیکی بالایی داشته و در یک دودمان قرار می گیرند (جدول ۲ و شکل ۱).

جدایه های ۱٤، ۲۰، ۲۸، ۰۳۷، ۰٤۱، ۰۷۱، ۰۵۹ تشابه ژنتیکی بالایی با هم دارند. اما تشابه چندانی با سایر جدایه های موجود در بانک ژن و سایر جدایه های جدا شده در این تحقیق ندارند. جدایه های دیگر این پژوهش شامل ٤۹، ۰٦٤، ۰۳۵ هر کدام به صورت جداگانه و مستقل از تمامی جدایه های این پژوهش و جدایه های موجود در بانک ژن قرار گرفته اند. بنابراین می توانند به عنوان سویه بومی ایران در بانک جهانی ژن ثبت شوند.

بحث

در پژوهش حاضر برای اولین بار در ایران آلودگی *مایکوپلاسمایی* تناسلی مردان و زنان مورد مطالعه فیلوژنتیک قرار گرفت. تحقیقات زیادی در مورد *مایکوپلاسما*ها در ایران و جهان انجام شده اما چنین پژوهشی تاکنون در ایران صورت نگرفته است. نتایج تحقیق می تواند به عنوان شاخصه



شکل ۱: درخت فیلوژنتیک *مایکوپلاسماهومینیس* جدا شده در این تحقیق و مقایسه آنها با سایر جدایه های ثبت شده در بانک ژن.

www.SID.ir

عفونت های *مایکوپلاسمایی* تناسلی در ایران مطرح باشد. *مایکوپلاسما هومینیس* به عنوان یکی از عوامل عفونی ترشحات تناسلی جداسازی و تعیین هویت گردید. به طور کلی تعیین هویت *مایکوپلاسماها* به درک پراکندگی و اپیدمیولوژی این عامل عفونی کمک می کند (۳، ۵ و ٦).

با توجه به اولویت اول این تحقیق که تعیین هویت مولکولی *مایکوپلاسما هومینیس* به عنوان عامل عفونت های تناسلی بود، به منظور جداسازی این عامل از روش PCR استفاده گردید. از آنجایی که روش PCR یک روش اختصاصی و سریع جهت جداسازی عامل می باشد، در این مطالعه نمونه ها غنی سازی نشدند. احمدی (Ahmadi) و همکاران نیز در مطالعه خود در سال ۲۰۱۰ عنوان نمودند که PCR از روش های معمول شناسایی سریع تر است و می تواند به عنوان یک روش قابل اعتماد در جداسازی *مایکوپلاسماهای* تناسلی به کار رود (۹).

عوامل متعددی ممکن است در ناباروری مردان و زنان دخالت داشته باشند که عفونت باکتریایی یکی از علل عمده این بیماری به شمار می رود. عوامل باکتریایی مختلفی در ناباروری دخالت دارند که شایع ترین و مهم ترین آنها *مایکوپلاسماهایی* مانند *مایکوپلاسما هومینیس* می باشند. این گروه با ایجاد عفونت هایی که فاقد علایم بالینی هستند موجب عدم مراجعه بیمار به پزشک و پیشرفت بیماری می گردند. بنابراین نقش مهمی را در ایجاد ناباروری ایفا می نمایند (۱۳).

قاضی سعیدی (Ghazisaeedi) و همکاران در سال ۲۰۰۸ میزان شیوع *مایکوپلاسماها* را در قطرات اولیه ادرار مردان ۱۲ درصد و در ترشحات پروستات ۱٤/٦ درصد گزارش نمودند (۱۳). این نتیجه از نظر فراوانی کمتر از میزان آلودگی به *مایکوپلاسما* (٤٤ درصد) در پژوهش حاضر می باشد. دلیل این مساله را می توان به تفاوت در نوع نمونه های به کار رفته برای آزمایش نسبت داد (۱). زیرا نمونه های به کارگرفته شده در تحقیق حاضر مایع منی و سواپ واژینال بودند. در حالی که در مطالعه آنها ترشحات پروستات و قطرات اولیه ادرار مورد ارزیابی قرار گرفته بود. از طرفی نمونه های مورد استفاده در پژوهش حاضر از مردان بارور مبتلا به عفونت ادراری جمع آوری شده بود.

همچنین میزان آلودگی به *مایکوپلاسما هومینیس* در تحقیق امیرمظفری (Amirmozafari) و همکاران که بر روی مایع منی مردان نابارور با روش کشت انجام گرفت، برابر ۳/۲ درصد گزارش گردید. این میزان بسیار پایین تر از نتایج تحقیق حاضر است (١٤). دلیل این تفاوت را می توان در روش ارزیابی عفونت جهت جداسازی *مایکوپلاسما* دانست. زیرا در مطالعه حاضر از روش PCR استفاده شد که دقیق تر و حساس تر از روش کشت می باشد.

در مطالعه احمدی (Ahmadi) و همکاران نیز، که بر روی مایع منی مردان نابارور با روش PCR صورت گرفت میزان آلودگی به *مایکوپلاسما هومینیس* برابر با ۱۵/۵ درصد به دست آمد (۹). میزان آلودگی به *مایکوپلاسماهای* تناسلی، در بررسی انجام گرفته توسط لوکی (Luki) و همکاران در کشور کانادا، که با روش کشت انجام گرفت بیش از ۵۰ درصد تعیین گردید (۱۵). این میزان از نتایج تحقیق حاضر (٤٤ درصد) بالاتر بود. علت این اختلاف را می توان به عوامل فرهنگی و اجتماعی رایج کشورهای دیگر و تفاوت این عوامل با ایران، مانند آزادی در روابط جنسی و تعدد شرکای جنسی در این کشورها نسبت داد (١٦ و ١٧).

همچنین در تحقیق وطنی (Vatani) و همکاران که بر روی زنان مبتلا به عفونت واژن، با روش PCR صورت گرفت، میزان جداسازی *مایکوپلاسماهای* تناسلی برابر با ٤٠/٨ درصد بود (۱۸). این یافته با نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر مطابقت دارد. بخشنده نصرت (Bakhshandehnosrat) و همکاران در سال ۲۰۰۹ در گرگان فراوانی *مایکوپلاسماهای* تناسلی در عفونت های تناسلی زنان را برابر ۱۲/۸ درصد و فراوانی *مایکوپلاسما هومینیس* را معادل ۷/۷ درصد گزارش نمودند. میزان فراوانی *مایکوپلاسماهای* تناسلی در زنان گرگان کمتر از حد انتظار است. شاید بتوان دلیل این تفاوت را به شرایط آب و هوایی محل زندگی این افراد نسبت داد (۱۹).

Archive of SID

www.SID.ir

با توجه به نتایج این پژوهش پیشنهاد می گردد که در صورت ابتلا به عفونت مایکوپلاسمایی تناسلی، درمان هم زمان و کامل زوجین با استفاده از آنتی بیوتیک های مناسب انجام شود. همچنین آموزش همگانی در زمینه توجه بیشتر به اصول بهداشتی و پیشگیری های لازم همواره مدنظر باشد. در افرادی که به عفونت تناسلی و ناباروری دچار نیستند نیز میزان مایکوپلاسماهای موجود در ادرار و دستگاه تناسلی سنجیده شده و هویت مولکولی آنها مشخص گردد و از نظر فلور طبیعی این باکتری ها مورد سنجش قرار گیرند.

نتیجه گیری

در مجموع نتایج این پژوهش نشان داد که *مایکوپلاسما هومینیس* به عنوان مهم ترین عامل میکروبی *مایکوپلاسمایی* ناباروری در جامعه آماری مورد مطالعه مطرح می باشد. همچنین تعیین هویت جدایه ها حاکی از آن است که از نظر مولکولی و توالی نوکلئوتیدی، جدایه های کرمان را می توان به دو دسته تقسیم نمود. دسته اول که با سایر جدایه های ایران و جهان در بانک ژن قرابت دارند و دسته دوم که به صورت دودمان های مستقل مطرح بوده و با هیچ یک از جدایه های ثبت شده در بانک ژن قرابت فیلوژنتیک ندارند.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از حوزه پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد سیرجان، جناب آقای دکتر مجید فصیحی هرندی و آقای محمدی به دلیل حمایت های علمی و آزمایشگاهی کمال امتنان را دارند.

References

1. Jensen JS. *Mycoplasma genitalium* infections, diagnosis, clinical aspects, and pathogenesis. Danish Med Bull. 2006: 53(1): 1-27.

2. Larsen B, Hwang J. *Mycoplasma*, *Ureaplasma*, and adverse pregnancy outcomes: A fresh look. Infect Dis Obst Gynecol. 2010; Article ID 521921.

3. Golshani M, Eslami G, Qbadlo SH, Fallah F, Goudarzi H, SoleimaniRahbar A. Isolation of *Chlamydia trachomatis, Mycoplasma hominis* and *Ureaplasmaurealyticum* by Multiplex PCR method in semen samples from infertile men. Iranian Health J. 2006; 36(2): 50-57. [In Persian]

4. Larsen B, Hwang J. *Mycoplasma*, *Ureaplasma*, and adverse pregnancy outcomes: A fresh look. Infect Dis Obst Gynecol. 5nd ed. New York. WHO Press; 2010.

5. Mihai M, Vaneltin N, Anton G, Coralia, B, Nora M, Demetra S. High prevalence of flouroquinolones resistance in ureaplasma and mycoplasma strain isolated from infertile women under initial evaluation in north-east Romania. Romanian Biotech Let. 2011; 6(1): 5858-5862.

6. González-Pedraza A, Ortiz C, Mota R, Dávila R, Dickinson E. Role of bacteria associated with sexually transmitted infections in the etiology of lower urinary tract infection in primary care. Enferm Inf Microbiol Clin. 2013; 21(2): 89-92.

7. Najarpirayeh SH, Al yasin A. Comparison of PCR with culture for detection of *Mycoplasma hominis* in infertile women. Kowsar Med J. 2005; 10(3): 183-190. [In Persian]

8. Mousavian S, Motamedi H, Maleki S, Shahbazian N. Frequency *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* in women with urogenital tract infections techniques using Multiplex

Archive of SID

www.SID.ir

PCR and culture methods. Med J Tabriz Med Sci Uni. 2011; 33(5): 91-97. [In Persian]

9. Ahmadi M, Amir Mozaffari N, Kazemi B, Sedighigilani M, Masjedianjazi F. Detection of *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* in semen of infertile men referred to Royan Institute by PCR method in 2010. Cell J Yakhteh. 2010; 12(3): 371-380. [In Persian]

10. Vosooghi S, Kheirkhah B, Mir-shekari TR, KarimiNik A, Hamidavi Mohammadpour S, Mohseni Moghadam N. Molecular detection of *Mycoplasma hominis* from genital secretions of infertile men referred to the Kerman infertility center. J Microbial World. 2013;6(1): 14-22. [In Persian]

11. Massar FA, Abu-Elamreen FH, Shubair ME, Sharif FA. Detection of *Chlamydia trachomatis* and *Mycoplasma hominis, genitalium* and *Ureaplasma urealyticum* by polymerase chain reaction in patients with sterile pyuria. Adv Med Sci. 2012; 53(1): 80-86.

12. Soleimani Rahbar A, Golshan M, Fayyad F, Rafiee Tabatabaei P, Moradi A. Detection of *Mycoplasma* DNA in the sperm of infertile men by PCR method. Pediatr Infect Dis Res. 2007; 1(1): 47-53. [In Persian]

13. Ghazi Saeedi K, Fateminasab F, Vatani S, Azimi Y, Bakhshandenosrat S, Mohamadi M. Compare two methods prostatic massage and urine initial drop sample in isolates of *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* in urinary tract. J Lab Med. 2008; 2(1): 15-18. [In Persian]

14. Amir Mozafari N, Jadi F, Masjedian F, Haghighi L. Prevalence of *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* in the genital infections. J Iranian Med Sci. 2008; 15(60,61): 19-24. [In Persian]

15. Luki N, Lebel P, Boucher M, Doray B, Turgeon J, Brousseau R. Comparison of Polymerase Chain Reaction assay with culture for detection of genital *Mycoplasma* in perinatal infection. Eur Clin Microbiol Inf Dis. 1998; 17: 255-263.

16. Najarpirayeh SH, Samimi R. Detection of *Mycoplasma hominis* with PCR in endocervical samples from infertile women. Iran J Gyn Inf. 2006; 66: 63-68. [In Persian]

17. Domingus D, Tavira LT, Duarte A. Genital *Mycoplasma* in women attending a family planning clinic in Guine-Bissau and their susceptibility to antimicrobial agents. Acta Tropica. 2003; 86: 19-24.

18. Vtani SH, Qazi Saeedi K, Mohamadi M, Naji A, Fatemi Nasab F, Zarei H, Mohraz M. Evaluation of genital mycoplasma infection in women with vaginal infection with negative cultures by PCR. J Gorgan Uni Med Sci. 2006; 8(1): 50-45. [In Persian]

19. Bakhshandenosrat S, Ghazi Saeedi K, Livani S, Dadgar T, Bazori M, Bagheri H, Behnampour N, Ghaemi A. Frequency of genital *Mycoplasmas* in vaginal infections in Gorgan city. Iran J Gyn Inf. 2009; 14(3): 20-28. [In Persian]

Archive of SID

www.SID.ir

Journal of Microbial World
Volume 7, No. 3, October 2014

Original Article

Isolation and molecular identification of *Mycoplasma hominis* from genital system of infertile men and women

Samaneh Jamalizadeh Bahaabadi[1], Babak Kheirkhah[2], Alireza Farsinejad[3], Victoria Habibzadeh[4]

[1]MS.c., Department of Microbiology, Sirjan Science and Research Branch, Islamic Azad University, Sirjan, Iran.
[2]Assistant Professor, Department of Microbiology, Kerman Science and Research Branch, Islamic Azad University, Kerman, Iran.
[3]Assistant Professor, Department of Pathology, Faculty of Allied Medicine, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran.
[4]Assistant Professor, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran.

Abstract

Background & Objectives: *Mycoplasmas* are one of the causative aetiologies of infertility in human beings. Genital Mycoplasmal infections can damage reproductive systems and lead to infertility infant mortalities. The aim of this study was molecular identification of *Mycoplasma hominis* isolated from genital system of infertile men and women in Kerman.

Materials & Methods: This descriptive study was performed on 100 infertile men and 100 infertile women with a six month purposive sampling from the patients who referred to Infertility Center of Kerman. Semen and vaginal swab were tested by PCR assay for the presence of *M. hominis*. PCR product of positive samples were selected for sequencing. Sequence alignment was performed using MEGA 5 software and Neighbor-joining method.

Results: In this study 45% of the samples taken from men were infected to *Mycoplasma.* Among them, 33% of the isolates belonged to *M. hominis*. Furthermore, 43% samples taken from women were infected to *Mycoplasma*, among them 41.8% belonged to *M. hominis.* Based on sequencing analysis, these *M. hominis* isolated from the patients were categorized into 5 different strains.

Conclusion: In this study, *M. hominis* was indicated as the main microbial reason of infertility in this group. Sequence analysis of different *M. hominis* showed significant variability among the isolates. Therefore, these isolates can be reported as the local strains of Iran.

Keywords: *Mycoplasma hominis*, Infertility, Molecular identification, *16S rRNA*.

Correspondence to: Babak Kheirkhah

Tel: +989133454787

E-mail: B.kheirkhah@srbiau.ac.ir

Journal of Microbial World 2014, 7(3): 233-240.

Archive of SID

www.SID.ir