تحقیقی

مقایسه دو روش کشت و PCR در تشخیص عفونت واژینال ناشی از مایکوپلاسما هومینیس

زهرا حاجی مهدی نوری[۱]، دکتر خدیجه عنصری*[۲]، دکتر هایده مبین[۳]، سارا طالب زاده[٤]، منا موسوی[٥]

۱- دانشجوی دکتری رشته زیست سلولی - مولکولی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد سیرجان، سیرجان، ایران. ۲- استادیار، دکتری تخصصی ژنتیک مولکولی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، واحد پرند، دانشگاه آزاد اسلامی، پرند، ایران. ۳- استادیار، گروه میکروب‌شناسی، دانشکده پزشکی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران. ٤- کارشناس ارشد میکروب شناسی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، واحد پرند، دانشگاه آزاد اسلامی، پرند، ایران. ٥- کارشناس ارشد، ژنتیک مولکولی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه سیستان و بلوچستان، زاهدان، ایران.

چکیده

زمینه و هدف : *مایکوپلاسما هومینیس کوچک‌ترین باکتری پاتوژن بدون دیواره سلولی است که زندگی آزاد دارد. این میکروارگانیسم سخت و دیررشد بوده و شناسایی آن به دلیل مشکل بودن و رشد بسیار کند آن، توسط روش‌های سنتی میکروب‌شناسی کشت با مشکل روبرو است. این مطالعه به منظور مقایسه دو روش کشت و PCR در تشخیص عفونت واژینال ناشی از مایکوپلاسما هومینیس انجام شد.*

روش بررسی : *این مطالعه از نوع بررسی تست های تشخیصی روی ۱۵۰ بیمار مبتلا به عفونت واژینال باکتریایی و ۵۰ فرد سالم بدون هیچ عفونت باکتریایی واژینال (کنترل) مراجعه کننده به بیمارستان‌های امام‌خمینی (ره) و امام‌زمان (عج) استان تهران انجام شد. پس از نمونه‌برداری، نمونه‌ها در داخل لوله‌های حاوی PBS و PPLO به آزمایشگاه منتقل گردید.*

یافته ها : *با روش کشت از ۱۵۰ نمونه بیمار مبتلا به عفونت واژینال، ۵۳ نمونه (۳۵/۳درصد) از نظر وجود مایکوپلاسما هومینیس مثبت و از طریق PCR ۱۱٤ نمونه (۷٦درصد) مثبت گزارش شد. همچنین با روش PCR از ۵۰ فرد گروه کنترل ٤ نفر (۸ درصد) مثبت ارزیابی شدند. بین نتایج PCR با سقط جنین، محل زندگی و سطح تحصیلات ارتباط آماری معنی داری مشاهده نشد. ارتباط مستقیمی بین سن افراد، رعایت بهداشت در تعویض به موقع لباس زیر و تعداد زایمان در گروه مبتلا مشاهده شد (P<۰/۰۵).*

نتیجه‌گیری : *روش PCR در مقایسه با روش کشت، برای شناسایی موارد مثبت مایکوپلاسما هومینیس در زنان با عفونت واژینال مناسب‌تر است.*

کلید واژه‌ها : *مایکوپلاسما هومینیس ، عفونت واژینال ، کشت ، PCR*

* نویسنده مسؤول : دکتر خدیجه عنصری ، پست الکترونیکی onsory@gmail.com

نشانی : اتوبان تهران – ساوه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد پرند، دانشکده علوم پایه، گروه زیست شناسی، تلفن ۵۶۷۳۳۰۴۹-۰۲۱، نمابر ٦٦۰۷۰۵۰۵

وصول مقاله : ۹۳/۹/۱۵ ، اصلاح نهایی : ۹۳/۱۲/۱۷ ، پذیرش مقاله : ۹٤/۲/۱۵

Archive of SID

مقدمه

مایکوپلاسماهای ژنیتال عامل عفونت دستگاه ادراری - تناسلی است. مایکوپلاسما هومینیس با واژینوز باکتریایی، بیماری التهابی لگن، پیلونفریت، اندومتریت، پروستاتیت، تب بعد از زایمان، تب بعد از سقط جنین، سقط جنین خودبه‌خودی تکرار شونده، تولد نوزاد با وزن پایین و منتژیت نوزادی ارتباط دارد (۱و۲). مایکوپلاسما هومینیس در واژن دوسوم زنان مبتلا به واژینوز باکتریایی یافت شده و در بروز واژینوز باکتریایی نقش دارد (۳). این میکروارگانیسم‌ها، دارای زندگی آزاد بوده و اغلب به عنوان فلور طبیعی دهان، دستگاه تنفسی و ادراری - تناسلی محسوب می‌شوند (۴). این باکتری‌ها به دلیل نداشتن دیواره سلولی در میان پروکاریوت‌ها، منحصر به فرد و مسؤول بسیاری از خواص بیولوژیک مانند عدم رنگ‌پذیری با رنگ‌آمیزی گرم و عدم حساسیت به بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌های معمول مثل بتالاکتام‌ها هستند و به ارگانیسم‌های شبه‌پلورو پنومونی (PPLO) (Pleuro Pneumonia-like Organisms) مشهور هستند. به‌واسطه برخی خصوصیات نظیر فقدان دیواره سلولی، اندازه بسیار کوچک و نیز مشکلاتی که در زمینه کشت و جداسازی آنها وجود دارد؛ کمتر مورد مطالعه قرار گرفته‌اند (۵و۶). این ارگانیسم‌ها به‌وسیله ارگانل‌های سطحی خود به سطوح مخاطی تناسلی می‌چسبند و با توجه به قدرت بالای کلونیزاسیون در اندوسرویکس، سبب عوارض خطرآفرین برای مادر و نوزاد می گردند. مایکوپلاسماها از مرحله بلاستوسیت دوره جنینی ممانعت به عمل آورده و موجب مسمومیت تخمک می گردند. علاوه بر آن، با تغییر اسیدیته واژن، موجب

www.SID.ir

کاهش تعداد و کارایی اسپرم و نازایی می‌گردند (۷). فراوانی مایکوپلاسما هومینیس در زنان بیش از مردان گزارش شده است (۷). در صورت عدم تشخیص، پیشگیری و درمان مناسب، عفونت‌های مایکوپلاسمایی به طور مستمر باقی می‌ماند و منجر به عواقب خطرناکی مانند بیماری التهابی لگن و ناباروری می‌گردند (۱۰-۸). به دلیل سخت رشد بودن و حساس بودن مایکوپلاسما هومینیس، کشت این باکتری می‌تواند دارای نتایج منفی کاذب باشد. از طرفی چون کشت بسیار طولانی و وقت‌گیر است؛ امکان دسترسی به نتایج مطلوب در زمان کوتاه امکان‌پذیر نیست. در حالی که PCR روشی حساس، سریع و دارای ویژگی‌ها و اختصاصیت بالا است که می‌تواند در زمانی کوتاه جوابی دقیق از حضور این باکتری‌ها را گزارش دهد. این مطالعه به منظور مقایسه دو روش کشت و PCR در تشخیص عفونت واژینال ناشی از مایکوپلاسما هومینیس انجام شد.

روش بررسی

این مطالعه از نوع بررسی تست‌های تشخیصی روی ۱۵۰ بیمار مبتلا به عفونت واژینال باکتریایی و ۵۰ فرد سالم بدون هیچ عفونت باکتریایی واژینال (کنترل) مراجعه کننده به بیمارستان‌های امام‌خمینی (ره) و امام‌زمان (عج) استان تهران طی سال‌های ۹۳-۱۳۹۲ انجام شد.

از آزمودنی ها رضایت‌نامه کتبی آگاهانه شرکت در مطالعه اخذ گردید. متغیرهای سن، سطح تحصیلات، محل زندگی، سن ازدواج، سن اولین بارداری، تعداد زایمان، سابقه زایمان زودرس، سابقه سقط جنین خودبه‌خودی، استفاده از استخرهای عمومی، رعایت موازین بهداشتی در تعویض به موقع لباس زیر، درد در نواحی تحتانی شکم، استفاده از پمادهای آنتی‌بیوتیک واژینال، روش‌های جلوگیری از بارداری، استفاده از ژل‌های واژینال معطر و ترشحات بدبو با استفاده از پرسشنامه جمع‌آوری شد.

از هر بیمار دو سواب نمونه برداری شد. نمونه‌ها در داخل لوله‌های حاوی PBS و PPLO انتقالی در ظرف حاوی یخ جمع‌آوری و به آزمایشگاه انتقال داده شد. کشت نمونه‌هایی که در PPLO انتقالی به آزمایشگاه منتقل شده بودند؛ فیلتر شده و در محیط کشت PPLO مایع همراه با اندیکاتور فنل رد کشت داده شد و از نظر مشاهده تغییر رنگ روزانه ارزیابی گردید. به محض مشاهده تغییر رنگ از زرد به قرمز ارغوانی، در محیط کشت PPLO Agar ساب کالچر شد و به مدت ۲ تا ۵ روز در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور CO2دار انکوبه گردید. مایکوپلاسما هومینیس با مصرف آرژنین، مواد قلیایی تولید کرده و pH محیط کشت را افزایش داده و رنگ زرد محیط کشت به علت وجود فنول رد به رنگ قرمز تغییر می‌یابد که از همین ویژگی به منظور شناسایی اولیه استفاده شد. پس از تشکیل کلنی تخم مرغی شکل مایکوپلاسما هومینیس، رنگ‌آمیزی داینس انجام شد.

استخراج DNA از نمونه‌هایی که در PBS به آزمایشگاه انتقال داده شدند؛ توسط کیت استخراج DNA (Bioneer, Germany) انجام شد. سپس DNA حاصله بر روی ژل آگارز یک درصد الکتروفورز شد.

توالی پرایمرهای مورد استفاده (۱۱) در جدول یک آمده است.

جدول ۱ : مشخصات و توالی پرایمرهای PCR به کار رفته برای بررسی ژن 16srRNA مایکوپلاسما هومینیس

محصول PCR	توالی	ژن هدف
bp ۵۸۹	F-3′-TGAAAGGCGCTGTAAGGCGC-5′ R-5′TAATCCTGTTTGCTCCCCAC-3′	16srRNA

واکنش PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر در نظر گرفته شد. مخلوط واکنش شامل ۱۰ میکرولیتر از Master mix (2X)، نیم میکرولیتر از هر یک از پرایمرها (غلظت نهایی ۵۰۰ nM)، نیم میکرولیتر از DNA الگو و۱۳/۵ میکرولیتر آب مقطر دیونیزه بود. پس از مخلوط کردن تمام اجزای واکنش، میکروتیوب‌ها در دستگاه ترموسایکلر قرار گرفتند و PCR انجام شد. شرایط چرخه PCR شامل ۳۵ سیکل با دمای اولیه ۹۵ درجه سانتی‌گراد، دمای ۵۹/۵ درجه سانتی‌گراد برای اتصال پرایمر و دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد برای ادامه واکنش هر یک به مدت یک دقیقه انجام شد. برای تایید نتایج PCR، ۵۰ نمونه از محصولات PCR پس از خالص‌سازی از روی ژل به کمک PCR Template Purification Kit (ساخت شرکت Roche آلمان) مورد توالی‌یابی قرار گرفت.

داده ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS-21 تجزیه و تحلیل شدند. برای ارتباط بین متغیرها و خطر ابتلا به مایکوپلاسما هومینیس Odds Ratio (OR) و Confidence Interval (CI) مورد محاسبه قرار گرفت. سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ به عنوان مشخصه ارتباط مثبت با خطر آلودگی به مایکوپلاسما هومینیس در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

با روش کشت از ۱۵۰ نمونه، ۵۳ نمونه (۳۵/۳درصد) از نظر وجود مایکوپلاسما هومینیس مثبت گزارش شد (جدول ۲).

با استفاده از روش PCR از ۱۵۰ بیمار مورد مطالعه، ۱۱۴ نفر (۷۶ درصد) و از ۵۰ فرد گروه کنترل ۴ نفر (۸ درصد) از نظر آلودگی به مایکوپلاسما هومینیس مثبت بودند. بدین ترتیب موارد مثبت با روش PCR، در مقایسه با کشت بیشتر (۳۵/۳ درصد) ارزیابی شد.

در یک مورد با وجود مشاهده تغییر رنگ محیط PPLO مایع از زرد به قرمز، علی‌رغم حضور مایکوپلاسما کلنی تخم‌مرغی شکل در محیط PPLO آگار مشاهده نگردید؛ ولی با تکنیک PCR نیز

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۲ : نتایج کشت و PCR از نظر فراوانی مایکوپلاسما هومینیس در بیماران مبتلا به عفونت واژینال و افراد سالم (کنترل)

	روش کشت		روش PCR	
	مثبت (درصد)	منفی (درصد)	مثبت (درصد)	منفی (درصد)
بیمار	۵۳ (۳۵/۳)	۹۷ (٦٤/٧)	۱۱٤ (٧٦)	۳٦ (۲٤)
کنترل	۰ (۰)	۱۰۰ (۱۰۰)	٤ (۸)	٤٦ (۹۲)

جدول ۲ : مقایسه نتایج کشت و PCR از نظر فراوانی مایکوپلاسما هومینیس در بیماران مبتلا به عفونت واژینال و افراد سالم (کنترل)

	کشت و PCR مثبت (درصد)	کشت منفی و PCR مثبت (درصد)	کشت مثبت و PCR منفی (درصد)	کشت و PCR منفی (درصد)
بیمار	۵۳ (۳۵/۳)	٦۱ (٤۰/٦)	۰ (۰)	۳٦ (۲٤)
کنترل	۰ (۰)	٤ (۸)	۰ (۰)	٤٦ (۹۲)

جدول ٤ : توزیع آلل‌ها بین بیماران مبتلا به عفونت واژینال و افراد سالم (کنترل)

	متغیرها	بیمار تعداد (درصد)	کنترل تعداد (درصد)	نسبت شانس	فاصله اطمینان ۹۵ درصد	p-value
سن (سال)	۱۸-۳۳	۸۹ (۵۹/۳)	۲۲ (٤٤)	۱		
	۳٤-٤۸	٤۸ (۳۲)	۱۸ (۳٦)	۳/۱۲	۸/۰۲-۱/۲	۰/۰۱ *
	٤۹-٦۳	۱۳ (۸/٦)	۱۰ (۲۰)	۲/۰۵	۵/۵-۰/۷٦	۰/۱۵
رعایت بهداشت در تعویض لباس	مناسب	۱۹ (۱۲/۷)	٤۳ (۸٦)	۱		
	نامناسب	۱۳۱ (۸۷/۳)	۷ (۱٤)	۳/۸۹	۲/۲٤-۰/۳۵	۰/۰۳ *
تعداد زایمان (دفعه)	صفر	٤۰ (۲٦/٦)	٦ (۱۲)	۱	۷/۹۱-۱/۱۷	
	۱-۲	٤۰ (۲٦/٦)	۱۲ (۲٤)	۳/۰٤	۷/۹۱-۱/۱۷	۰/۰۲ *
	بیش از ۲	۷۰ (٤٦/٦)	۳۲ (٦٤)	۱/۵۲	۲/۲۸-۰/۷۰	۰/۲۸

P< ۰/۰۵ *

همین نمونه مثبت و حضور مایکوپلاسما هومینیس تایید گردید.

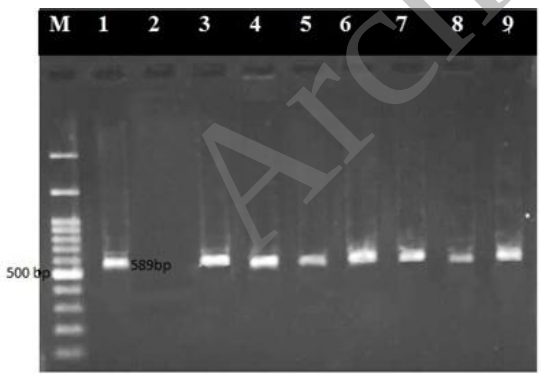
۵۳ نمونه (۳۵/۳ درصد) کشت مثبت و PCR مثبت، ۶۱ نمونه (۴۰/۶ درصد) کشت منفی و PCR مثبت و ۳۶ نمونه (۲۴ درصد) کشت منفی و PCR منفی بودند. در هیچ‌یک از موارد کشت مثبت، PCR منفی مشاهده نشد (جدول ۳).

نتایج حاصل از توالی‌یابی مستقیم با رفرنس‌های ژنومی مایکوپلاسما هومینیس موجود در Gen Bank کاملاً مشابه بود و صحت نمونه‌های مورد بررسی تایید شد که نشان دهنده تعلق همه نمونه‌ها به مایکوپلاسما هومینیس بود.

بیماران در محدوده سنی ۶۳-۱۸ سال و میانگین سنی ۹/۵۴±۳۳/۸ سال بودند. افراد سالم (کنترل) در محدوده سنی ۸۱-۱۹ سال و میانگین سنی ۱۴/۳۹±۳۷/۴ سال بودند. ارتباط آماری معنی‌داری بین افراد دارای سنین ۴۸-۳۴ سال و افزایش خطر عفونت مایکوپلاسما هومینیس مشاهده شد (P<۰/۰۱).

ارتباط آماری معنی‌داری بین عدم رعایت موازین بهداشتی در مورد تعویض لباس (P<۰/۰۳) و تعداد زایمان کمتر از ۲ بار (P<۰/۰۲) با خطر ابتلا به مایکوپلاسما هومینیس مشاهده شد (جدول ۴). هیچ‌گونه ارتباط آماری معنی‌دار بین سایر متغیرهای مورد مطالعه با خطر ابتلا به مایکوپلاسما هومینیس مشاهده نگردید.

پس از انجام واکنش PCR، محصول PCR، bp-۵۸۹ بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد مشاهده شد. نمونه‌های آلوده به مایکوپلاسما هومینیس در ردیف‌های ۳ تا ۹ تصویر قابل مشاهده هستند (شکل یک).



شکل ۱ : محصول PCR
ردیف M : مارکر(۱۰۰ bp) ، ردیف ۱ : کنترل مثبت مایکوپلاسما هومینیس، ردیف ۲ : کنترل منفی، ردیف ۳ تا ۹ : بیمار

بحث

با توجه به نتایج این مطالعه روش PCR در مقایسه با روش کشت، برای شناسایی موارد مثبت مایکوپلاسما هومینیس در زنان با عفونت واژینال ارجح‌تر بود.

Archive of SID
www.SID.ir

مایکوپلاسماهای ژنیتال به‌ویژه مایکوپلاسما هومینیس، ساکن طبیعی دستگاه ادراری - تناسلی مردان و زنانی است که فعالیت جنسی دارند (۱۱). جداسازی این باکتری در زنان بیش از مردان بوده و از طریق تماس جنسی یا در هنگام تولد از مادر به نوزاد منتقل می‌شود. با توجه به یافته‌های مطالعه حاضر، تعداد نسبتاً بالایی از زنان دارای عفونت واژینوز باکتریایی، آلوده به مایکوپلاسما هومینیس هستند. حضور مایکوپلاسما هومینیس در مجاری ادراری - تناسلی اغلب بدون علامت بالینی بوده و با عواقب خطرناک این عفونت‌ها از جمله عفونت التهابی لگن و ناباروری غربالگری میکروبی برای زنان و همسرانشان به خصوص در سنین جوانی امری اجتناب‌ناپذیر است (۱۲و۱۳). از آنجایی که روش کشت بسیار طولانی و وقت‌گیر است؛ امکان دسترسی به نتایج مطلوب در زمان کوتاه امکان‌پذیر نیست. در حالی که PCR روشی حساس، سریع و دارای ویژگی‌های بالا و اختصاصی است که می‌تواند برخلاف روش کشت حتی DNA باکتری‌های مرده را نیز شناسایی کند. مایکوپلاسماها به دلیل فقدان دیواره سلولی در برابر شرایط محیطی حساسند و نتایج کشت می‌تواند به صورت کاذب منفی باشد. در حالی که PCR می‌تواند حتی DNA باکتری‌های مرده را نیز تشخیص دهد.

در مطالعه Abele-Horn و همکاران در آلمان (۱۴) و مطالعه Luki و همکاران در کانادا (۱۵) نتایج مثبت حاصل از PCR که کشت آنها منفی بود؛ به عنوان مثبت کاذب در نظر گرفته نشد. از آنجایی که روش کشت دارای حساسیت و ویژگی صددرصد نیست؛ در مطالعه حاضر نیز مواردی از نمونه‌ها که با روش PCR مثبت شدند؛ نتیجه کشت منفی داشتند و به عنوان مثبت کاذب تلقی نشدند. با این که مایکوپلاسما هومینیس نسبت به سایر مایکوپلاسماهای انسانی در شرایط آزمایشگاهی آسان‌تر رشد می‌کند؛ ولی در مقایسه با باکتری‌های دیگر، به دلیل فقدان دیواره سلولی به شرایط محیطی از قبیل 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 برود و در محیط‌های کشت قابل بازیابی نباشد. ولی از آنجایی که در PCR نیاز به باکتری زنده نیست؛ لذا تحت تاثیر نمونه‌برداری و انتقال به آزمایشگاه نتایج نادرست حاصل نمی‌گردد. از طرفی 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 را پرهزینه و با صرف وقت زیاد همراه می‌کند. در حالی که با روش PCR می‌توان در عرض چند ساعت چندین نمونه را به‌طور همزمان مورد آزمایش قرار داد و نتایج را گزارش نمود. در مطالعه حاضر شیوع مایکوپلاسما هومینیس توسط روش کشت ۳۵/۳ درصد و با روش PCR ۷۶ درصد بود. مطالعات زیادی در ارتباط با بررسی شیوع مایکوپلاسماهای تناسلی در نقاط مختلف دنیا انجام گرفته است. به‌طوری که شیوع مایکوپلاسما هومینیس با روش کشت از ۵درصد در مکزیک (۱۶) تا ۲۶درصد در ترکیه (۱۷) متغیر بوده است. در مطالعه‌ای در کانادا شیوع مایکوپلاسما هومینیس ۱۰/۹ درصد گزارش شد (۱۸). با روش PCR شیوع مایکوپلاسما بین ۷ درصد در اتریش (۱) و ۳۱ درصد در ترکیه (۱۹) متغیر بوده است. در مطالعه‌ای که حسنی و همکاران روی ۱۹۱ بیمار مبتلا به عفونت دستگاه تناسلی با علایم بالینی مراجعه کننده به بیمارستان امام خمینی تهران با روش PCR انجام دادند؛ ۲۷ درصد از بیماران مبتلا به مایکوپلاسما هومینیس بودند (۲۰). مطالعه وطنی و همکاران روی ۱۷۴ بیمار با آلودگی مایکوپلاسماهای ژنیتال در زنان مبتلا به واژینوز باکتریایی انجام شد و ۵۹/۳ درصد از بیماران با کشت منفی، نتیجه PCR مثبت داشتند (۲۱). در مطالعه امیرمظفری و همکاران که روی ۲۰۵ نمونه با عفونت دستگاه ادراری - تناسلی در شهر تهران انجام شد؛ با استفاده از روش کشت ۷/۷۶ درصد مایکوپلاسما هومینیس مثبت گزارش گردید (۲۲).

در مطالعه حاضر، بیشترین درصد افراد در محدوده سنی ۳۳-۱۸ سال بودند و ارتباط معنی‌داری بین افراد با سنین ۴۸-۳۴ سال و افزایش خطر عفونت مایکوپلاسما هومینیس مشاهده گردید. در مطالعه موسویان و همکاران نشان داده شد در افرادی با سن فعالیت جنسی، میزان این باکتری بیشتر است (۲۳) که با مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد. به‌نظر می‌رسد فعالیت جنسی زیاد بیش از سن در کلونیزاسیون این باکتری نقش مهمی داشته باشد (۲۳).

در مطالعه بخشنده‌نصرت و همکاران توزیع فراوانی مایکوپلاسماهای تناسلی در عفونت‌های اوروژنیتال ۲۳۵ زن در شهر گرگان بررسی شد. میانگین سنی افراد آلوده به مایکوپلاسما به‌طور معنی‌داری بیش از افراد غیرآلوده بود (۲۴). در مطالعه امیرمظفری و همکاران بیشترین موارد کشت مثبت در گروه سنی ۳۹-۲۹ سال دیده شد (۲۲). این نتایج مشابه مطالعات انجام شده در هند (۲۵) و ترکیه (۲۶) بود که ناشی از نزدیکی فرهنگ این کشورها با ایران است.

در مطالعه حاضر ارتباط آماری معنی‌داری بین حضور مایکوپلاسما هومینیس و تعداد کمتر از دو زایمان مشاهده شد. همچنین بین عدم رعایت موازین بهداشتی در مورد تعویض لباس زیر و افزایش خطر آلودگی به این باکتری ارتباط آماری معنی دار بود.

پیشنهاد می‌گردد توجه بیشتری به نقش مایکوپلاسما هومینیس در ایجاد عفونت‌های تناسلی، تشخیص و درمان به موقع بیماران و بررسی عفونت‌های مایکوپلاسمایی به عنوان اولویت‌های بهداشتی

Archive of SID

www.SID.ir

در نظر گرفته شود. لذا لازم است که آزمون‌های مربوط به شناسایی این ارگانیسم در آزمایشگاه‌های تشخیص طبی راه‌اندازی شود و متخصصین زنان و زایمان برای تایید مشاهدات بالینی خود از وجود این آزمون‌ها بهره ببرند.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان دهنده ارجح بودن روش PCR در مقایسه با روش کشت برای شناسایی موارد مثبت مایکوپلاسما هومینیس در زنان با عفونت واژینال است.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان نامه خانم زهرا حاجی مهدی نوری برای اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته میکروب‌شناسی از دانشکده علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهر بود. بدین‌وسیله از کارکنان بخش جراحی بیمارستان‌های امام‌خمینی(ره) و امام زمان (عج) استان تهران که در جمع‌آوری نمونه‌ها ما را یاری نمودند؛ نهایت سپاس خود را اعلام می‌داریم.

References

1. 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. East J Med. 2001; 6(2): 48-52.

2. Taylor-Robinson D, Furr PM. Update on sexually transmitted mycoplasmas. Lancet. 1998;351 (Suppl 3):12-5.

3. Rosenstein IJ, Morgan DJ, Sheehan M, Lamont RF, Taylor-Robinson D. Bacterial vaginosis in pregnancy: distribution of bacterial species in different gram-stain categories of the vaginal flora. J Med Microbiol. 1996 Aug;45(2):120-6.

4. Karimzadeh Meybodi MA, Taheripanah R. [Infections in Recurrent Miscarriage]. J Reprod Infertil. 2000; 1(2):24-34. [Article in Persian]

5. Najarpirayeh SH, Aleyasin A. [Comparison of PCR and culture for detection of Mycoplasma hominis in infertile women]. Kowsar Med J. 2005; 10(3): 183-90. [Article in Persian]

6. Najar Pirayeh Sh, Samini R. [Detection of mycoplasma hominis in endocervix specimens from infertile women by PCR]. Daneshvar Medicin. 2007; 14(66): 63-8. [Article in Persian]

7. Karmastchi A. [Prevalence of genital mycoplasmas in women with abortion in Tehran]. Hormozgan Med J. 2002;3(6):13-16. [Article in Persian]

8. Dhawan B, Gupta V, Khanna N, Singh M, Chaudhry R. Evaluation of the diagnostic efficacy of PCR for Ureaplasma urealyticum infection in Indian adults with symptoms of genital discharge. Jpn J Infect Dis. 2006 Feb;59(1):57-8.

9. Purwar M, Ughade S, Bhagat B, Agarwal V, Kulkarni H. Bacterial vaginosis in early pregnancy and adverse pregnancy outcome. J Obstet Gynaecol Res. 2001 Aug;27(4):175-81.

10. Talati AJ, Crouse DT, English BK, Newman C, Livingston L, Meals E. Exogenous bovine surfactant suppresses tumor necrosis factor-alpha release by murine macrophages stimulated by genital mycoplasmas. J Infect Dis. 1998 Oct;178(4):1122-5.

11. Rosemond A, Lanotte P, Watt S, Sauget AS, Guerif F, Royère D, et al. [Systematic screening tests for Chlamydia trachomatis, Mycoplasma hominis and Ureaplasma urealyticum in urogenital specimens of infertile couples]. Pathol Biol (Paris). 2006 Apr; 54(3):125-9. [Article in French]

12. Coşkun E, Özkan S, Vural B. Impact of genital infections on fertility. J Turk Ger Gynecol Assoc. 2005; 6(3):197-203.

13. Gilbert GL. Treatment of chlamydial and mycoplasmal genital infections. Med J Aust. 1987 Feb;146(4):205-8.

14. Abele-Horn M, Wolff C, Dressel P, Zimmermann A, Vahlensieck W, Pfaff F, Ruckdeschel G. Polymerase chain reaction versus culture for detection of Ureaplasma urealyticum and Mycoplasma hominis in the urogenital tract of adults and the respiratory tract of newborns. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 1996 Jul;15(7):595-8.

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 mycoplasmas in perinatal infections. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 1998 Apr;17(4):255-63.

16. Robertson JA. Potential virulence factors of Ureaplasma urealyticum. Pediatr Infect Dis. 1986 Nov-Dec;5(6 Suppl):S322-4.

17. Watson RA. Gonorrhea and acute epididymitis. Mil Med. 1979 Dec; 144(12):785-7.

18. Weidner W, Brunner H, Krause W. Quantitative culture of ureaplasma urealyticum in patients with chronic prostatitis or prostatosis. J Urol. 1980 Nov;124(5):622-5.

19. Stewart FS. Bacteriology Virology and Immunity for Students of Medicine. 10th. Philadelphia: WB Saunders Co. 1978; pp: 282-4.

20. Hassani A, Shahrokhi N, Khezerdoust S, Sarshar M, Takroosta N, Norouzi J. [Detection of ureaplasma urealyticum and Mycoplasma hominis in clinical isolates from women with genital tract infection by PCR]. Iran J Clin Infect Dis. 2012; 17(3): 45-50. [Article in Persian]

21. Vatani Sh, Ghazisaidi K, Mohamadi M, Naji AR, Fateminasab F, Zeraati H, et al. [The survey of contmination with genital mycoplasma in women with bactrial vaginalis by PCR method]. J Gorgan Uni Med Sci. 2006; 8(1):45-50. [Article in Persian]

22. Amirmozafari N, Jeddi F, Masjedian F, Haghighi L. [Prevalence of Mycoplasma hominis and Ureaplasma urealyticum in Genital Tract Infections]. Razi Journal of Medical Sciences. 2008; 15(60-61): 19-25. [Article in Persian]

23. Mosavian M, Maleki S, Shahbazian N. [Comparison of frequency of Mycoplasma hominis and Ureaplasma urealyticum in women with urogenital infections using techniques Multiplex PCR and culture methods]. J Tabriz Med Sci. 2011; 33(5): 91-7. [Article in Persian]

24. Bakhshandeh Nosrat S, Ghazisaidei K, Livani S, Dadgar T, Bazueri M, Bagheri H, et al. [The prevalence of genital mycoplasmas in vaginal infections in Gorgan, Iran]. Iran J Obstet Gynecol Infertil. 2011; 14(3): 20-28. [Article in Persian]

25. Dhawan B, Gupta V, Khanna N, Singh M, Chaudhry R. Evaluation of the diagnostic efficacy of PCR for Ureaplasma urealyticum infection in Indian adults with symptoms of genital discharge. Jpn J Infect Dis. 2006 Feb;59(1):57-8.

26. Kilic D, Basar MM, Kaygusuz S, Yilmaz E, Basar H, Batislam E. Prevalence and treatment of Chlamydia trachomatis, Ureaplasma urealyticum, and Mycoplasma hominis in patients with non-gonococcal urethritis. Jpn J Infect Dis. 2004 Feb; 57(1):17-20.

Archive of SID

www.SID.ir

Original Paper

Comparison of culture and PCR methods for diagnosis of vaginal infection due to Mycoplasma Hominis

Haji Mehdi Nouri Z (M.Sc)[1], Onsory Kh (Ph.D)*[2]
Mobaiyen H (Ph.D)[3], Talebzadeh S (M.Sc)[4] , Mousavi M (M.Sc)[5]

[1]Ph.D Candidate in in Cellular and Molecular Biology, Faculty of Science, Islamic Azad University, Sirjan Branch, Sirjan, Iran. [2]Assistant Professor, Molecular Genetics, Biology Department, Faculty of Science, Islamic Azad University, Parand Branch, Parand, Iran. [3]Assistant Professor, Microbiology Department, College of Medicine, Islamic Azad University, Tabriz Branch, Tabriz, Iran. [4]M.Sc in Microbiology, Biology Department, Faculty of Science, Islamic Azad University, Parand Branch, Parand, Iran. [5]M.Sc in Molecular Genetics, Biology Department, Faculty of Science, Sistan-Bloochestan University, Zahedan, Iran.

Abstract

Background and Objective: Mycoplasma Hominis is the smallest pathogenic bacteria, with no cell wall and free living organisms. It grows slowly and the conventional clinical microbiology techniques can not be applied due to difficulties in cultivation in particular slow growth incubation. This study was done to compare the culture and PCR methods for diagnosis of vaginal infection due to Mycoplasma Hominis.

Methods: This laboratory test evaluation study was done on 150 patients with bacterial vaginosis and 50 healthy people with no infection as control, whom refereed to Imam Khomeini and Imam Zaman Hospitals in Tehran. Samples were collected in PPLO culture for growth and PBS to perform PCR method.

Results: 35.3% and 76% of patients were positive using culture and PCR methods, respectively. Using PCR method 8% of control subjects was positive. There was no significant association between PCR method with abortion, place of residence and also level of educations. There was a significant association between the age ($P<0.05$), times of changing under wear cloths ($P<0.05$) and parity ($P<0.05$).

Conclusion: PCR method is a more reliable technique to detect the vaginal infection due to Mycoplasma Hominis compared to culturing.

Keywords: Mycoplasma Hominis, Vaginal infection, Culture, PCR

*** Corresponding Author: Onsory Kh (Ph.D), E-mail: onsory@gmail.com**

Received 6 Dec 2014 **Revised** 8 Mar 2015 **Accepted** 5 May 2015

Archive of SID

Cite this article as: Haji Mehdi Nouri Z, Onsory Kh, Mobaiyen H, Talebzadeh S, Mousavi M. [Comparison of culture and PCR methods for diagnosis of vaginal infection due to Mycoplasma Hominis]. J Gorgan Uni Med Sci. Spring 2016; 18(1): 108-113. [Article in Persian]

www.SID.ir