Archive of SID

بررسی آلودگی با *مایکوپلاسما*های ژنیتال در زنان نابارور مبتلا به واژینوز باکتریایی با روش PCR

زهره احمدیان‌فرد[1]، امین معظمی[2*]

۱. کارشناسی مامایی، کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد سیرجان، سیرجان، ایران
۲. کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، گروه پرستاری، دانشگاه آزاد اسلامی واحد سیرجان، سیرجان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۶/۰۳
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۸/۲۳

چکیده

زمینه و هدف گونه‌های *اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم* و *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* مهم‌ترین عوامل پاتوژن فرصت‌طلب در دستگاه تناسلی زنان شناخته شده‌اند و از عوامل مهم در عفونت لگن، اورتریت غیرگنوکوکی، سقط جنین و ناباروری هستند. هدف این پژوهش بررسی آلودگی با *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* و *اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم* در زنان نابارور مبتلا به واژینوز باکتریایی با روش PCR است.

مواد و روش‌ها در پژوهشی مقطعی طی سال ۱۳۹۴ـ۹۵، از ۶۰ خانم دارای عفونت واژینال (واژینیت و سرویسیت) مراجعه‌کننده به آزمایشگاه‌های مراکز درمان ناباروری شهر کرمان نمونهٔ سوآب اندوسرویکال تهیه شد. نمونه‌ها در محیط ترانسپورت به آزمایشگاه منتقل شد و DNA استخراج‌شده از نمونه‌ها به‌عنوان الگو جهت تکثیر ژن کدکنندهٔ 16s rRNA در PCR مورد استفاده قرار گرفت. نتایج با آزمون کای دو تحلیل شد و به‌صورت آمار توصیفی (میانگین، انحراف معیار، تعداد و درصد) گزارش گردید.

یافته‌ها از ۶۰ نمونهٔ مورد مطالعه، ۲۳ نمونه (۳۸/۳ درصد) دارای آلودگی مایکوپلاسمایی بودند که باکتری‌های *اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم* و *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* به‌ترتیب در ۸ نمونه (۱۳/۳ درصد) و ۷ نمونه (۱۱/۶ درصد) از بیماران مشاهده شد.

نتیجه‌گیری با توجه به تأثیر بالقوهٔ *مایکوپلاسما*ها در عوارض ناشی از عفونت مادران باردار و مرگ جنین، ضرورت تشخیص سریع این عفونت بیش از پیش احساس می‌شود. از دو عامل میکروبی مورد بررسی در این مطالعه، امکان ناباروری ناشی از عفونت با *اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم* قوّت بیشتری گرفت؛ اما همچنان به بررسی‌های بیشتر نیاز است.

کلیدواژه‌ها:
اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم، *مایکوپلاسما ژنیتالیوم*، واژینوز باکتریایی، PCR، کرمان.

۱. مقدمه

مجرای ژنیتال زنان مکان مناسبی برای رشد و تکثیر باکتری هاست و میکروارگانیسم‌های مختلفی در هر قسمت از مجرای تناسلی می‌توانند عامل عفونت باشند. در میان میکروارگانیسم های متعددی که در مجرای تناسلی زنان وجود دارند، *مایکوپلاسما*ها به‌فراوانی جدا شده‌اند. [۱] شرایط غیرمعمول بارداری و تهاجم باکتری‌های بیماری‌زا باعث تکثیر و بیماری زایی *مایکوپلاسما*های دستگاه تناسلی می‌شوند. [۲] *مایکوپلاسما*ها باکتری‌های فاقد دیوارهٔ سلولی‌اند که ۰/۲ـ۰/۱ میکرون‌قطر و ۱ـ۲ میکرومتر طول دارند. *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* یکی از گونه‌های مهم *مایکوپلاسما* محسوب می‌شود که عامل اورتریت غیرگنوکوکی، بیماری التهاب لگن و سقط‌های خودبه خودی با زایمان زودرس است. [۳] با روش PCR میزان جداسازی *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* در انگلیس بین صفر تا ۶ درصد

* **نویسندهٔ مسئول: امین معظمی**
نشانی: گروه پرستاری، دانشگاه آزاد اسلامی واحد سیرجان، سیرجان، ایران

تلفن: ۰۳۴-۴۱۵۲۳۳۲۰ **دورنگار:** ۰۳۴-۴۱۵۲۳۳۲۰
رایانه: Amin_moazemi@yahoo.com
شناسه ORCID: 0000-0001-5388-5058
شناسه ORCID نویسندهٔ اول: 0000-0003-2729-0119

مجلهٔ علمی ـ پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، دورهٔ ۲۷، شمارهٔ ۶، بهمن و اسفند ۱۳۹۸، ص ۷۹۵-۷۸۹
آدرس سایت: http://jsums.medsab.ac.ir رایانامه: journal@medsab.ac.ir
شاپای چاپی: ۷۴۸۷-۱۶۰۶

www.SID.ir

Archive of SID

و در کشور نیوزلند تا ۳۴/۴ درصد گزارش شده است. [۴]

جنس *اوره آپلاسما* به ردهٔ *مولیکوتس*ها و خانوادهٔ *مایکوپلاسماتاسه* تعلق دارد و *اوره آپلاسما*ها کوچک‌ترین سلول های پروکاریوتی هستند که دیوارهٔ سلولی ندارند و از شایع‌ترین باکتری‌های ساکن دستگاه تناسلی زنان به‌شمار می‌روند. [۵] *اوره آپلاسما* درحدود ۵۰ درصد زنان باردار به‌عنوان قسمتی از فلور نرمال واژن یافت می‌شود. تخمین زده شده که میزان کلونیزاسیون گونه‌های *اوره آپلاسما* در زنان بالغ ۴۰ـ۸۰ درصد است که این میزان به عواملی همچون وضعیت اقتصادی (فقر)، تعداد شرکای جنسی، فعالیت جنسی، سن، سیکل زنانه، حاملگی و عفونت‌های میکروبی وابسته است. [۶] *اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم* پاتوژن‌های غالب مسبب بیماری‌های منتقله از راه جنسی است و با چندین بیماری انسانی نظیر اورتریت غیرگنوکوکی و سرویسیت و با مشکلاتی مانند سقط جنین، زایمان زودرس و پنومونی نوزادان ارتباط دارد. [۶]

به‌علت سخت‌رشد بودن این میکروارگانیسم‌ها بر روی محیط کشت، گرانی و ناپایداری این محیط‌ها و همچنین نیازمندی به فاکتورهای رشد، کشت و جداسازی *مایکوپلاسما*ها در آزمایشگاه فرایندی زمان‌بر و طولانی است [۷]؛ بنابراین ضرورت بررسی این میکروارگانیسم‌ها با روش‌های نوین و سریع بیش از پیش احساس می‌شود و با توجه به اهمیت بیماری‌های ایجادشده توسط *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* و *اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم* لازم است افراد آلوده به‌سرعت شناسایی و درمان شوند. [۸] روش PCR دارای پتانسیل زیادی جهت تشخیص دقیق و سریع این دو باکتری است که درنتیجه می‌توان امکان شروع هرچه سریع‌تر درمان آنتی‌بیوتیکی را نیز فراهم آورد. [۹] بنابراین هدف این تحقیق بررسی آلودگی با *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* و *اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم* در زنان نابارور مبتلا به عفونت واژینوز باکتریایی با روش PCR در شهر کرمان بود.

۲. مواد و روش‌ها

تحقیق حاضر یک بررسی مقطعی است. حجم نمونه، با استفاده از فرمول جدول مورگان، ۶۰ نفر انتخاب شد و نمونه‌برداری در زنان مبتلا به عفونت واژینال (وجود ترشحات چرکی، سرویسیت و واژینیت) در محدودهٔ سنی ۱۸ـ۴۵ سال مراجعه‌کننده به آزمایشگاه‌های درمانگاه ناباروری نجمیه و بخش IVF بیمارستان افضلی‌پور در شهر کرمان طی سال‌های ۱۳۹۴ـ۹۵ صورت گرفت. پرسش‌نامه‌ای شامل اطلاعات بیمار، ازقبیل سن، سن ازدواج، سن اولین بارداری، دفعات بارداری، روش جلوگیری از بارداری، سابقهٔ سقط، استفاده از پماد واژینال و رعایت نکات بهداشت فردی (تعویض به‌موقع لباس زیر)، در اختیار افراد مورد مطالعه قرار گرفت. معیارهای ورود بیماران به پژوهش شامل وجود یک یا چند علامت مربوط به عفونت واژینال ازجمله سوزش و خارش در مجرای تناسلی، افزایش ترشحات، تغییر در رنگ و بوی ترشحات، عدم استفاده از آنتی‌بیوتیک و کرم واژینال سه روز قبل از مراجعه بود. نمونه‌ها از دو محل واژینال و اندوسرویکس به کمک دو سوآب پنبه‌ای استریل و اسپکولوم تهیه و بلافاصله در محیط ترانسپورت بافر فسفات سالین (PBS) با PH = ۷/۴ قرار داده شدند و از آنجایی که قابلیت زنده ماندن *مایکوپلاسما*ها با افزایش درجه حرارت به‌سرعت کاهش می‌یابد، با صرف کمترین زمان (حداکثر سه ساعت) به آزمایشگاه انتقال یافتند. [۱۰]

به‌منظور استخراج DNA از کیت استخراج ستونی DNA شرکت سینا کلون[1] استفاده شد و براساس دستورالعمل شرکت، فرایند استخراج و تخلیص انجام شد. در این پژوهش، از ژن 16s rRNA به‌عنوان ژن هدف جهت ردیابی *مایکوپلاسما*ها استفاده شد. توالی نوکلئوتیدی و ویژگی آغازگرهای به‌کاررفته در تشخیص جنس *مایکوپلاسما*، گونه‌های *مایکوپلاسما ژنیتالیوم*، *اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم* در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱. توالی پرایمرهای مورد استفاده در این تحقیق

Bacteria	Target gene	Primer	Sequence	Length
مایکوپلاسما	16S rRNA	GSO MGSO	5′-GGGAGCAAACAGGATTAGATACCCT-3′ 5′-TGCACCATCTGTCACTCTGTTAACCTC-3′	163
مایکوپلاسما ژنیتالیوم	16S rRNA	MG-F MG-R	5′-TACATGCAAGTCGATCGGAAGTAGC-3′ 5′-AAACTCCAGCCATTGCCTGCTAG-3′	427
اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم	16S rRNA	UF UR	U4: ACGACGTCCATAAGCAACT U5: CAATCTGCTCGTGAAGTATTAC	429

1. Sinna Pure DNA: Gram negative & Positive

www.SID.ir

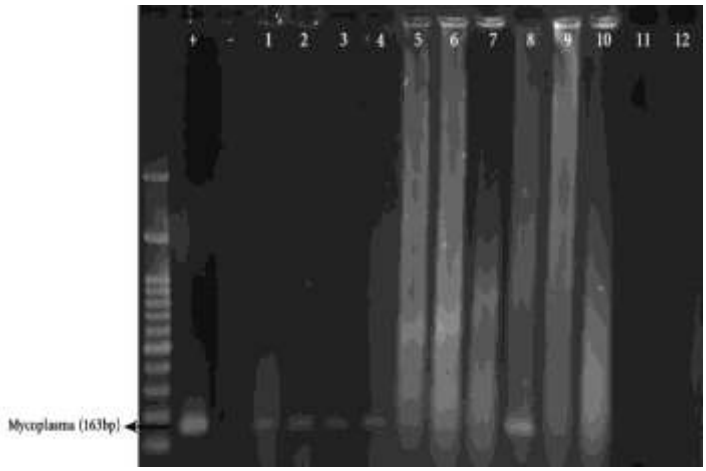
Archive of SID

در روش PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر و در ۳۳ سیکل با دمای واسرشت ۹۴ درجه سانتی‌گراد برای مدت ۳۰ ثانیه، دمای اتصال در دمای ۵۵ـ۶۰ درجه سانتی‌گراد برای مدت ۳۰ ثانیه و دمای گسترش در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد برای مدت ۱ دقیقه در دستگاه ترموسایکلر[۱] انجام شد و جهت بررسی محصولات روش PCR از ژل آگارز ۱/۵ درصد به‌همراه اتیدیوم بروماید ۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر استفاده شد و در ادامه ژل‌ها به مدت ۳۰ دقیقه تحت تأثیر ولتاژ ۷۵ الکتروفورز شدند و قطعات تکثیرشده با استفاده از نشانگر Ladder 100 در زیر دستگاه UV ترانس لومیناتور[۲] مورد بررسی قرار گرفت. اطلاعات به‌دست‌آمده در نرم‌افزار SPSS (نسخهٔ ۲۱) به کمک آزمون کای دو تحلیل و نتایج به‌صورت آمار توصیفی (میانگین، انحراف معیار، تعداد و درصد) گزارش شد.

۳. یافته‌های پژوهش

محدودهٔ سنی بیماران بین ۱۸ـ۴۵ سال با میانگین و انحراف معیار سن ۴/۳۲ ± ۳۲/۲۰ سال بود. حدود ۶۲/۸ درصد (۳۷ نفر) بیماران از نظر رعایت بهداشت در تعویض به‌موقع لباس زیر وضعیت مناسبی نداشتند؛ اما از نظر آماری ارتباط معناداری بین عدم رعایت بهداشت مناسب و خطر ابتلا به عفونت باکتریایی مشاهده نشد (p = 0/494). همچنین براساس اطلاعات مندرج در پروندهٔ پزشکی هریک از شرکت‌کنندگان در این پژوهش، ۸۸/۴ درصد علت ناباروری مسدود بودن لوله‌های رحمی (هیدروسالپنکس) ناشی از عفونت‌های مزمن واژن اعلام شده بود. بیشترین تعداد شرکت کنندگان دو فرزند داشتند که از لحاظ آماری ارتباط مثبتی بین شیوع بیماری و تعداد زایمان وجود داشت (p = 0/010)؛ به‌طوری که افرادی که تعداد زایمان بیشتری داشتند، میزان ابتلا به عفونت های باکتریایی در آن‌ها زیاد بود.

پس از آزمایش PCR بر روی ۶۰ نمونه (سوآب اندوسرویکس و واژینال)، نمونه‌های (+) جنس *مایکوپلاسما* پس از مشاهدهٔ باند ۱۶۳bp در ژل آگارز ۱/۵ درصد تأیید شدند و در ادامه نمونه‌های (+) جنس *مایکوپلاسما* جهت تعیین گونه‌های *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* و *اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم* مجدداً تحت واکنش PCR قرار گرفتند. از مجموع ۶۰ نمونهٔ به‌دست‌آمده از زنان نابارور مبتلا به واژینوز باکتریایی، ۲۳ مورد (۳۸/۳ درصد) از نمونه‌ها از نظر وجود *مایکوپلاسما* مثبت شدند که ۷ نمونه (۱۱/۶ درصد) شامل *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* و ۸ نمونه (۱۳/۳ درصد) *اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم* بودند. استفاده از روش PCR با پرایمرهای اختصاصی جهت تکثیر ژن 16s rRNA منجر به تولید قطعاتی به طول bp ۴۲۷ برای *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* و bp ۴۲۹ برای *اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم* که به‌صورت باند منفرد بر روی ژل آگارز (۱/۵ درصد) مشاهده شدند (شکل ۱ـ۳). محصولات PCR برای تعیین توالی ارسال شدند و توالی‌های به‌دست‌آمده با نرم‌افزار BLAST در سایت NCBI مورد تأیید قرار گرفت. نتایج نشان داد با استفاده از این توالی‌ها می‌توان به‌طور اختصاصی وجود باکتری‌های *اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم* و *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* را بدون نیاز به کشت در نمونه‌های بیمار تأیید کرد.



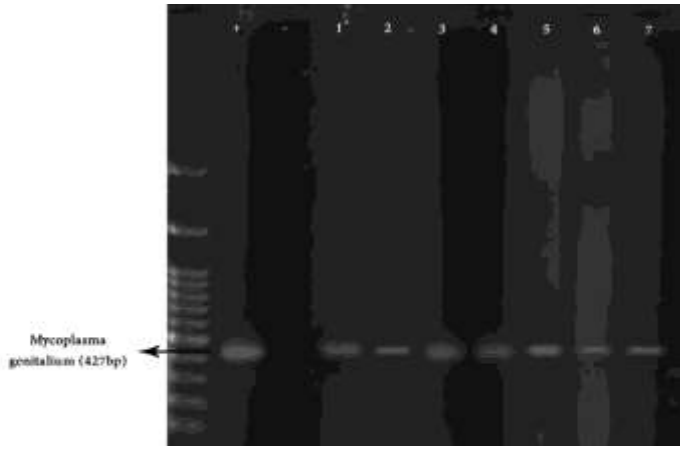
شکل ۱. تصویر الکتروفورز ۱۲ نمونه محصول PCR با استفاده از آغازگر اختصاصی جنس *مایکوپلاسما*
(-) Negative Control- (+) Positive Control -Marker 100bp

۱. مدل ۵۳۳۱، Eppendorf Master Cycler Gradient، آلمان.

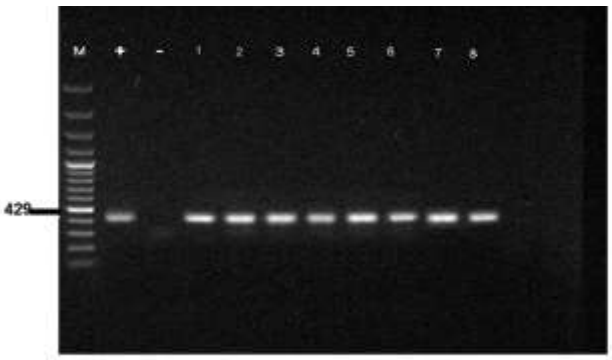
۲. Cleaver Scientific ، انگلستان.

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۲. تصویر الکتروفورز محصول PCR با استفاده از آغازگر اختصاصی گونهٔ *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* باندهای bp ۴۲۷ در ۷ نمونه مثبت *ژنیتالیوم* مشاهده می‌شود.
(-) Negative Control- (+) Positive Control -Marker 100bp



شکل ۳. تصویر الکتروفورز محصول PCR با استفاده از آغازگر اختصاصی گونهٔ *اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم* باندهای bp ۴۲۹ در ۸ نمونهٔ مثبت *اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم* مشاهده می‌شود.
(-) Negative Control- (+) Positive Control -Marker 100bp

۴. بحث و نتیجه‌گیری

باکتری‌های *اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم* و *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* از خانوادهٔ *مایکوپلاسماتاسه*، پاتوژن‌های فرصت‌طلب دستگاه تناسلی هستند. [۱۰] وجود این باکتری‌های فرصت‌طلب به عنوان عضوی از فلور میکروبی در افراد سالم و نیز نقش آن‌ها در بیماری‌زایی دستگاه تناسلی همواره چالشی بحث‌برانگیز بوده است. [۱۰] از دلایل عمدهٔ بیماری‌زایی این باکتری‌ها می‌توان به تغییر شرایط واژن و جایگزینی آن‌ها با فلور نرمال ازجمله *لاکتوباسیلوس*ها اشاره کرد. [۱۱] تشخیص سریع *مایکوپلاسما*های ژنیتال در بیماران دارای عفونت دستگاه تناسلی به‌دلیل نقش این باکتری در سقط خودبه‌خودی جنین، تب پس از زایمان، زایمان پیش از موعد و کوریوآمنیونیت بسیار حائز اهمیت است. [۱۲] لذا در این موارد لازم است عامل عفونت زا به‌سرعت شناسایی و درمان شود. روش مرسوم کشت اصولاً وقت‌گیر و زمان‌بر است؛ به‌گونه‌ای که جهت دستیابی به نتایج به مدت زمان طولانی سه تا هفت روز درمورد *اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم* و گاهی تا هشت هفته برای *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* نیاز است. [۱۳] امروزه با استفاده از روش‌های مولکولی مثل PCR دستیابی سریع‌تر به نتایج امکان‌پذیر شده و زمان سنجش توأم با حساسیت و اختصاصیت بسیار بالا فقط به چند ساعت کاهش یافته است. [۱۳]

در پژوهش حاضر، نتایج روش PCR نشان داد که از مجموع ۶۰ نمونه، ۲۳ مورد (۳۸/۳ درصد) از نظر وجود *مایکوپلاسما*ها مثبت شدند که ۷ نمونه شامل جنس *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* (۱۱/۶ درصد) و ۸ نمونه *اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم* (۱۳/۳ درصد) بودند. در بررسی‌های مختلف، شیوع متفاوتی از *مایکوپلاسما*های تناسلی در نقاط مختلف جهان و

www.SID.ir

Archive of SID

ایران گزارش شده است که این می‌تواند ناشی از روش مطالعه، جمعیت مورد مطالعه (مصرف آنتی‌بیوتیک، وجود شرکای جنسی و غیره)، تعداد نمونه، روش نمونه‌گیری، سن بیماران و روش آزمایشگاهی (نوع PCR) باشد. آن لوکی و همکاران [۱۴] در کشور کانادا با استفاده از تکنیک PCR و کشت پژوهشی برای جداسازی *اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم*، *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* و *مایکوپلاسما هومینیس* در نمونه‌های بالینی (ترشحات واژن، اندوسرویکس و سوآب‌های پوست) به دست‌آمده

از ۴۷ زن باردار در معرض خطر و ۸ نوزاد تازه‌متولد انجام دادند. با استفاده از تکنیک PCR، جداسازی DNA *اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم* از ۳۱ بیمار از ۵۵ بیمار مطالعه شده و *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* در ۲ نمونه تسهیل شد. چهار بیمار PCR مثبت، نتیجهٔ کشت منفی نشان دادند. در تحقیق یون و همکاران [۱۵]، مایع آمنیوتیک به‌دست‌آمده از ۱۵۴ بیمار که دچار شکاف زودهنگام غشای آمنیون شده بودند، از نظر وجود *اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم* به‌وسیلهٔ PCR و کشت بررسی و *اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم* به‌وسیلهٔ PCR در ۲۸ درصد بیماران و از طریق کشت در ۱۶ درصد بیماران جدا شد. وطنی و همکاران [۱۶] به بررسی آلودگی با *مایکوپلاسما*های ژنیتال در ۱۷۴ زن مبتلا به واژینوز باکتریال پرداختند و نتایج کشت باکتری‌های *اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم* (۶۰/۶ درصد)، *مایکوپلاسما هومینیس* (۱۱/۳ درصد) و *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* (۵/۷ درصد) را مورد مقایسه قرار دادند. این گروه با استفاده از روش کشت توانستند ۷۱ نمونه (۴۰/۸ درصد) *مایکوپلاسما*های ژنیتال را تشخیص دهند؛ درحالی که PCR از نمونه‌های کشت منفی نشان داد که ۱۴ نمونهٔ دیگر نیز از نظر وجود باکتری در نمونه، مثبت است که این نشانگر برتری روش‌های تشخیص مولکولی همانند PCR در تشخیص و شناسایی این باکتری‌هاست. ذوالفقاری و همکاران [۱۷] در تحقیقی، با روش Real-time PCR اظهار کردند که ۸۷/۲۷ درصد از بیماران مبتلا به *اوره آپلاسما* و ۳/۶۳ درصد حامل *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* هستند. در پژوهش حسنی و همکاران [۱۸] که در سال ۱۳۸۹ بر روی ۱۹۱ بیمار مبتلا به عفونت دستگاه تناسلی با علائم بالینی مراجعه‌کننده به بیمارستان امام خمینی تهران با روش PCR انجام شد، ۲۷ درصد بیماران مبتلا به مایکوپلاسما ژنیتالیوم بودند. در تحقیق نجار و همکاران [۱۹]، حساسیت روش PCR و روش کشت به ترتیب ۹۱/۸ و ۵۳ درصد گزارش شد که مهر تأییدی بر حساسیت و سرعت بالای روش PCR دربرابر روش کشت برای جداسازی این باکتری‌هاست.

از محدودیت‌های مطالعهٔ حاضر می‌توان به تعداد اندک مراکز درمان ناباروری و تعداد کم نمونه‌های بالینی در شهر کرمان اشاره کرد؛ به‌طوری که نتایج این پژوهش صرفاً مربوط به دو مرکز درمان ناباروری است. همچنین از دیگر محدودیت ها عدم اندازه‌گیری حساسیت و ویژگی در روش PCR بود. بنابراین پیشنهاد می‌شود جهت بهبود کیفیت غربالگری در در زنان مبتلا به واژینوز باکتریایی، در کنار استفاده از روش تشخیصی PCR، روش پاپ اسمیر همراه با آزمایش سایتولوژی سرویکس نیز انجام شود.

با توجه به تأثیر بالقوهٔ *مایکوپلاسما*ها در عوارض ناشی از عفونت مادران باردار و مرگ جنین، ضرورت تشخیص دقیق به وسیلهٔ روش‌های آزمایشگاهی نوین و همچنین درمان به‌هنگام بیماران بیش از پیش احساس می‌شود. پژوهش حاضر نشان داد که استفاده از روش PCR در شناسایی اختصاصی *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* و *اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم* روشی قابل اعتماد است و تکرارپذیری بالایی دارد. از سوی دیگر برنامهٔ غربالگری زنان فعال جنسی با خطر بالای ابتلا به عفونت‌های جنسی اهمیت بسیاری دارد؛ فراوانی ۱۳/۳ درصد برای *اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم* و ۱۱/۶ درصد برای *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* به‌دست‌آمده از این مطالعه بر اهمیت برنامهٔ غربالگری این نوع عفونت در ایران تأکید می‌کند و باید به‌منزلهٔ یک راهبرد آن را درنظر گرفت.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از کارکنان درمانگاه ناباروری نجمیه و بخش IVF بیمارستان افضلی‌پور شهر کرمان که ما را در جمع‌آوری نمونه یاری دادند و همچنین از تمام زنان شرکت‌کننده در این تحقیق سپاس‌گزاری می‌شود.

References

[1]. Agata B, Peter F, Jens F, Hans J K, Svend B, Gunna C. Morphology of human Fallopian tubes after infection with *Mycoplasma genitalium* and *Mycoplasma hominis* in vitro organ culture study. J Human Reproduction. 2013; 22(4): 968-79.

[2]. Abdulrazak AA, Bakr SS. Role of *Mycoplasma* in male infertility. *East Mediterr* Health J. 2012; 6(2): 149-55.

[3]. Lawton BA, Rose SB, Bromhead C, Gaitanos LA, MacDonald EJ, Lund KA. High prevalence of *Mycoplasma genitalium* in women presenting for termination of pregnancy. Contraception J. 2008; 77(4): 294-8.

[4]. Abdo E M, Nicolet J, Fery J. Antigenic and genetic characteristics LPPQ from *Mycoplasma mycoides* Small Colony. Clin Diag Lab Immun. 2014; 7(4): 588-93.

www.SID.ir

Archive of SID

[5]. Waites K, Rikihisa Y. *Mycoplasma* and *ureaplasma*. *Manual of clinical Microbiology*. 2014; 8(1): 167-90.

[6]. Debata NK, Naessens A, Sanocka M. Prevalence of *Mycoplasma*s in genital tract. *Indian J Medical microbiology*. 2011; 15(l): 25-7.

[7]. Grzesko J, Elias M, Maczynska B, Kasprzykowska U, Tlaczala M, Goluda M. Occurrence of *Mycoplasma genitalium* in fertile and infertile women. Fertile Steril. 2015; 91(6): 2376-80.

[8]. Jorgen SJ, Martin BB, Birthe DJ. Detection of *Mycoplasma genitalium* by Amplification of the 16s rRNA Gene. J Clinical Microbiology. 2004; 19(4): 71-8.

[9]. Jorgen SJ. *Mycoplasma genitalium* infections, Diagnosis, clinical aspects and pathogenesis. Danish Medical Bulletin. 2007; 53(1): 47-79.

[10]. Iker G, Faruk A, Ilkkan D, Canan A, Omer LT, Osman T. *Chlamydia*, *Mycoplasma* and *Ureaplasma* infection in infertile couples and effects of these infections on fertility. Arch Gynecol Obstet. 2011; 28(2): 379-85.

[11]. Larsen B, Hwang J. Mycoplasma, Ureaplasma, and adverse pregnancy outcomes. Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology. 2011; 23(6): 138-41.

[12]. Jensen JS, Uldum SA, Sondergard-Andersen J, Vuust J, Lind K. Polymerase chain reaction for detection of *Mycoplasma genitalium* in clinical samples. J Clin Microbiol. 2006; 29(2): 46-50.

[13]. Stellrecht KA, Woron AM, Mishrik NG, Venezia RA. Comparison of multiplex PCR assay with culture for detection of genital *Mycoplasma*s. J Clin Microbiol. 2012; 42(4): 128-33.

[14]. 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; 17(4):255-63.

[15]. Yoon BH, Romero R, Kim M, Kim EC, Kim T, Park JS, et al. Clinical implications of detection of *Ureaplasma urealyticum* in the amniotic cavity with the polymerase chain reaction. Am J Obstet Gynecol. 2000; 183(5):1130-7.

[16]. Vatani SH, Mohamadi M, Naji AR, Fateminasab F, Zeraati H, Mohraz M. The survey of contamination with genital mycoplasma in women with bacterial vaginalis by PCR method. J Gorgan Univ Med Sci. 2008; 71(3): 2045-50. (Persian)

[17]. Zolfaghari M, Khansarinejad B, Ganji A, Hamzehloo Z, Abtahi H. Frequency Determination of *Ureaplasma* And *Mycoplasma Genitalium* Species in Female with Vaginitis Infection using Real-Time PCR. AMUJ. 201; 19(116): 39-46. (Persian)

[18]. Hasani A, Shahrokhi N, Khazardust S, Sarshar M, Takrosta N, Norozi J. Detection of *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma Genitalium* Bacteria in Patients with Genital Infection by PCR. Faslname Bimarihaye Ofoni va Garmsiri. 2012; 17(58): 45-50. (Persian)

[19]. Najar SH, Saro R. Detection of *Ureaplasma Urealyticom* in clinical samples from infertile women by polymerase chain reaction. IJPT. 2007; 6(1): 23-6.

www.SID.ir

Archive of SID

The Survey of Contamination with Genital Mycoplasma among Infertile Women with Bacterial Vaginosis by PCR

Zohreh Ahmadiyan fard[1], Amin Moazami[2*]

1. Midwife, MSc in Microbiology, Islamic Azad University of Sirjan, Sirjan, Iran
2. MSc in Microbiology, Dept. of Nursing, Islamic Azad University of Sirjan, Sirjan, Iran

Abstract

Introduction: *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma genitalium* are the most important opportunistic pathogens in the female reproductive system and the causative agent of the pelvic infection, non-gonococcal urethritis, abortion and infertility. The aim of this study was to the survey of contamination with genital mycoplasma among infertile women with bacterial vaginalis by PCR method in Kerman.

Methods: In this cross-sectional study**,** the endo cervical swab sample from 60 women with vaginal infection (vaginitis and cervicitis) referred to the diagnostic laboratories of infertility treatment centers in Kerman in 2013 was prepared. The specimens were transferred to the laboratory in the transport medium and the DNA extracted from the specimens was analyzed as a template for amplification of the 16S rRNA encoding gene in the PCR reaction. Data were analyzed by SPSS V.21 software.

Results: Among 60 samples, 38% (23 sample) of the samples had mycoplasma contamination and *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma genitalium* bacteria were found in 8 sample (13.32%) and 7 sample (11.6%) of patients, respectively.

Conclusion: Considering the potential effects of mycoplasmas on the complications of infection in maternal pregnancies and infant mortality, Therefore, the need for rapid diagnosis of this infection is felt more than ever. From the two microbial agents studied in this study, the possibility of infertility caused by infection with *Ureaplasma urealyticum* increased significantly, but more studies are needed.

Received: 2018/08/25
Accepted: 2018/11/14

Keywords: *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma genitalium*, Bacterial vaginosis, PCR, Kerman.

www.SID.ir