

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

زهرا احمدیان فرد^۱، امین معظمی^{۲*}

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

چکیده

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

زمینه و هدف گونه‌های *اوره آپلازما اوره آلیتیکوم* و *میکوپلازما ژنیتالایوم* مهم‌ترین عوامل پاتوژن فرصت طلب 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 *میکوپلازما ژنیتالایوم* و *اوره آپلازما اوره آلیتیکوم* در زنان نابارور مبتلا به واژینوز باکتریایی با روش PCR است.

مواد و روش‌ها در پژوهشی مقطعی طی سال ۱۳۹۴-۹۵، از ۶۰ خانم دارای عفونت واژینال (واژینیت و سرویسیت) مراجعه‌کننده به آزمایشگاه‌های مراکز درمان ناباروری شهر کرمان نمونه سواب اندوسرویکال تهیه شد. نمونه‌ها در محیط ترانسپورت به آزمایشگاه منتقل شد و DNA استخراج شده از نمونه‌ها به‌عنوان الگو جهت تکثیر ژن کدکننده 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 نمونه مورد مطالعه، ۲۳ نمونه (۳۸/۳ درصد) دارای آلودگی میکوپلازمایی بودند که باکتری‌های *اوره آپلازما اوره آلیتیکوم* و *میکوپلازما ژنیتالایوم* به‌ترتیب در ۸ نمونه (۱۳/۳ درصد) و ۷ نمونه (۱۱/۶ درصد) از بیماران مشاهده شد.

نتیجه‌گیری با توجه به تأثیر بالقوه *میکوپلازما* 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 آپلازما اوره آلیتیکوم* قوت بیشتری گرفت؛ اما همچنان به بررسی‌های بیشتر نیاز است.

کلیدواژه‌ها:

اوره آپلازما اوره آلیتیکوم، *میکوپلازما ژنیتالایوم*، واژینوز باکتریایی، PCR، کرمان.

۱. مقدمه

زایی میکوپلازماهای دستگاه تناسلی می‌شوند. [۲] میکوپلازماها باکتری‌های فاقد دیواره سلولی‌اند که ۰/۱-۰/۲ میکرون قطر و ۱-۲ میکرومتر طول دارند. میکوپلازما ژنیتالایوم یکی از گونه‌های مهم میکوپلازما محسوب می‌شود که عامل اورتریت غیرگنوکوکی، بیماری التهاب لگن و سقط‌های خودبه‌خودی با زایمان زودرس است. [۳] با روش PCR میزان جداسازی میکوپلازما ژنیتالایوم در انگلیس بین صفر تا ۶ درصد

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 میکروارگانیسم‌های متعددی که در مجرای تناسلی زنان وجود دارند، میکوپلازماها به‌فراوانی جدا شده‌اند. [۱] شرایط غیرمعمول بارداری و تهاجم باکتری‌های بیماری‌زا باعث تکثیر و بیماری

* نویسنده 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 نویسنده اول: 0000-0003-2729-0119

مجله علمی - پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، دوره ۲۷، شماره ۶، بهمن و اسفند ۱۳۹۸، ص ۷۸۹-۷۹۵

آدرس سایت: http://jsums.medsab.ac.ir رایانامه: journal@medsab.ac.ir

شاپای چاپی: ۱۶۰۶-۷۴۸۷

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 محدوده سنی ۱۸-۴۵ سال مراجعه‌کننده به آزمایشگاه‌های درمانگاه ناباروری نجمیه و بخش IVF بیمارستان افضل‌پور در شهر کرمان طی سال‌های ۱۳۹۴-۹۵ صورت گرفت. پرسش‌نامه‌ای شامل اطلاعات بیمار، از قبیل سن، سن ازدواج، سن اولین بارداری، دفعات بارداری، روش جلوگیری از بارداری، سابقه 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 از جمله 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 $\text{pH} = 7.4$ قرار داده شدند و از آنجایی که قابلیت زنده ماندن مایکوپلازماها با افزایش درجه حرارت به سرعت 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^۱ استفاده شد و براساس دستورالعمل شرکت، فرایند استخراج و تخلیص انجام شد. در این پژوهش، از ژن 16S rRNA به‌عنوان ژن هدف جهت ردیابی مایکوپلازماها استفاده شد. توالی نوکلئوتیدی و ویژگی آغازگرهای به‌کاررفته در تشخیص جنس مایکوپلازما، گونه‌های مایکوپلازما ژنیتالایوم، اوره آپلازما اوره آلیتییکوم در جدول ۱ نشان داده شده است.

و در کشور نیوزلند تا ۳۴/۴ درصد گزارش شده است. [۴]
جنس اوره آپلازما به رده مایکوتسها و خانواده مایکوپلازما تاسه تعلق دارد و اوره آپلازماها کوچک‌ترین سلول‌های پروکاریوتی هستند که دیواره سلولی ندارند و از شایع‌ترین باکتری‌های ساکن دستگاه تناسلی زنان به‌شمار می‌روند. [۵]
اوره آپلازما در حدود ۵۰ درصد زنان باردار به‌عنوان قسمتی از فلور نرمال واژن یافت می‌شود. تخمین زده شده که میزان کلونیزاسیون گونه‌های اوره آپلازما در زنان بالغ ۴۰-۸۰ 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 آلیتییکوم 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 مایکوپلازماها 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 مایکوپلازما ژنیتالایوم و اوره آپلازما اوره آلیتییکوم 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 در نتیجه می‌توان امکان شروع هرچه سریع‌تر درمان آنتی‌بیوتیکی را نیز فراهم آورد. [۹]
بنابراین هدف این تحقیق بررسی آلودگی با مایکوپلازما ژنیتالایوم و اوره آپلازما اوره آلیتییکوم در زنان نابارور مبتلا به عفونت واژینوز باکتریایی با روش PCR در شهر کرمان بود.

جدول ۱. توالی پرایمرهای مورد استفاده در این تحقیق

Bacteria	Target gene	Primer	Sequence	Length
مایکوپلازما	16S rRNA	GSO MGSO	5'-GGGAGCAAACAGGATTAGATACCCT-3' 5'-TGCACCATCTGTCACCTCTGTAAACCTC-3'	163
مایکوپلازما ژنیتالایوم	16S rRNA	MG-F MG-R	5'-TACATGCAAGTCGATCGGAAGTAGC-3' 5'-AAACTCCAGCCATTGCCTGCTAG-3'	427
اوره آپلازما اوره آلیتییکوم	16S rRNA	UF UR	U4: ACGACGTCCATAAGCAACT U5: CAATCTGCTCGTGAAGTATTAC	429

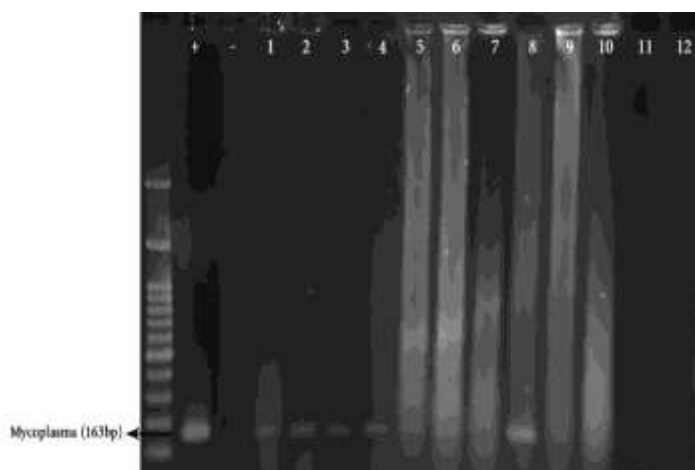
عفونت‌های مزمن واژن اعلام شده بود. بیشترین تعداد شرکت کنندگان دو فرزند داشتند که از لحاظ آماری ارتباط مثبتی بین شیوع بیماری و تعداد زایمان وجود داشت ($p = 0/010$)؛ به طوری که افرادی که تعداد زایمان بیشتری داشتند، میزان ابتلا به عفونت‌های باکتریایی در آن‌ها زیاد بود.

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

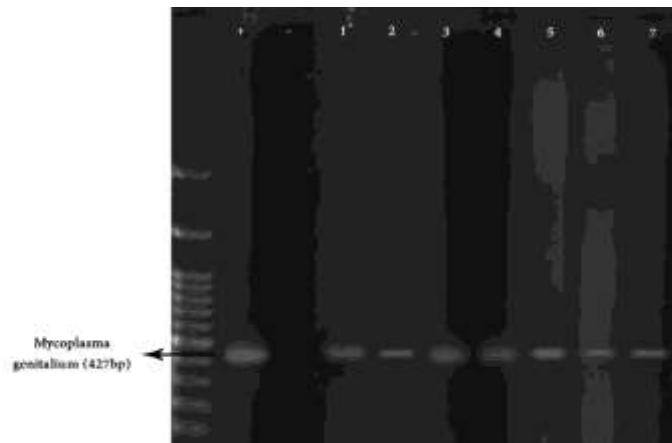
در روش PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر و در ۳۳ سیکل با دمای واسرشت ۹۴ درجه سانتی‌گراد برای مدت ۳۰ ثانیه، دمای اتصال در دمای ۶۰-۵۵ درجه سانتی‌گراد برای مدت ۳۰ ثانیه و دمای گسترش در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد برای مدت ۱ دقیقه در دستگاه ترموسایکلر^۱ انجام شد و جهت بررسی محصولات روش PCR از ژل آگارز ۱/۵ درصد به همراه اتیدیوم بروماید ۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر استفاده شد و در ادامه ژل‌ها به مدت ۳۰ دقیقه تحت تأثیر ولتاژ ۷۵ الکتروفورز شدند و قطعات تکثیر شده با استفاده از نشانگر Ladder 100 در زیر دستگاه UV ترانس لومیناتور^۲ مورد بررسی قرار گرفت. اطلاعات به دست آمده در نرم‌افزار SPSS (نسخه ۲۱) به کمک آزمون کای دو تحلیل و نتایج به صورت آمار توصیفی (میانگین، انحراف معیار، تعداد و درصد) گزارش شد.

۳. یافته‌های پژوهش

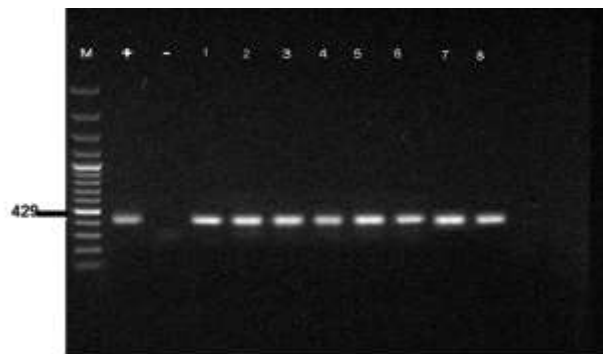
محدوده سنی بیماران بین ۱۸-۴۵ سال با میانگین و انحراف معیار سن $32/20 \pm 4/32$ سال بود. حدود ۶۲/۸ درصد (۳۷ نفر) بیماران از نظر رعایت بهداشت در تعویض به موقع لباس زیر وضعیت مناسبی نداشتند؛ اما از نظر آماری ارتباط معناداری بین عدم رعایت بهداشت مناسب و خطر ابتلا به عفونت باکتریایی مشاهده نشد ($p = 0/494$). همچنین براساس اطلاعات مندرج در پرونده پزشکی هریک از شرکت‌کنندگان در این پژوهش، ۸۸/۴ درصد علت ناباروری مسدود بودن لوله‌های رحمی (هیدروسالپنکس) ناشی از



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



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



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

۴. بحث و نتیجه‌گیری

باکتری‌های *اوره آپلازما اوره آلیتیکوم* و *مایکوپلازما ژنیتالایوم* از خانواده *مایکوپلازما تاسه*، 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 عمده بیماری‌زایی این باکتری‌ها می‌توان به تغییر شرایط واژن و جایگزینی آن‌ها با فلور نرمال از جمله *لاکتوباسیلوس*‌ها اشاره کرد. [۱۱] تشخیص سریع *مایکوپلازما*های ژنیتال در بیماران دارای عفونت دستگاه تناسلی به دلیل 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 به سرعت 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 آپلازما اوره آلیتیکوم* و گاهی تا هشت هفته برای *مایکوپلازما ژنیتالایوم* 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 *مایکوپلازما*ها مثبت شدند که ۷ نمونه شامل جنس *مایکوپلازما ژنیتالایوم* (۱۱/۶ درصد) و ۸ نمونه *اوره آپلازما اوره آلیتیکوم* (۱۳/۳ درصد) بودند. در بررسی‌های مختلف، شیوع متفاوتی از *مایکوپلازما*های تناسلی در نقاط مختلف جهان و

درصد بیماران مبتلا به میکوپلازما 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 در برابر روش کشت برای جداسازی این باکتری‌هاست.

از محدودیت‌های مطالعه حاضر می‌توان به تعداد اندک مراکز درمان ناباروری و تعداد کم نمونه‌های بالینی در شهر کرمان اشاره کرد؛ به طوری که نتایج این پژوهش صرفاً مربوط به دو مرکز درمان ناباروری است. همچنین از دیگر محدودیت‌ها 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 بالقوه میکوپلازما‌ها در عوارض ناشی از عفونت مادران باردار و مرگ جنین، ضرورت تشخیص دقیق به وسیله 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 میکوپلازما ژنیتال‌یوم و اوره آپلازما اوره آلپتیکوم روشی قابل اعتماد است و تکرارپذیری بالایی دارد. از سوی دیگر برنامه غربالگری زنان فعال جنسی با خطر بالای ابتلا به عفونت‌های جنسی اهمیت بسیاری دارد؛ فراوانی ۱۳/۳ درصد برای اوره آپلازما اوره آلپتیکوم و ۱۱/۶ درصد برای میکوپلازما ژنیتال‌یوم به‌دست‌آمده از این مطالعه بر اهمیت برنامه غربالگری این نوع عفونت در ایران تأکید می‌کند و باید به‌منزله یک راهبرد آن را در نظر گرفت.

تشکر و قدردانی

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

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 آپلازما اوره آلپتیکوم، میکوپلازما ژنیتال‌یوم و میکوپلازما 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 آپلازما اوره آلپتیکوم از ۳۱ بیمار از ۵۵ بیمار مطالعه شده و میکوپلازما ژنیتال‌یوم در ۲ نمونه تسهیل شد. چهار بیمار PCR مثبت، نتیجه کشت منفی نشان دادند. در تحقیق یون و همکاران [۱۵]، مایع آمنیوتیک به‌دست‌آمده از ۱۵۴ بیمار که دچار شکاف زودهنگام غشای آمیون شده بودند، از نظر وجود اوره آپلازما اوره آلپتیکوم به‌وسیله PCR و کشت بررسی و اوره آپلازما اوره آلپتیکوم به‌وسیله PCR در ۲۸ درصد بیماران و از طریق کشت در ۱۶ درصد بیماران جدا شد. وطنی و همکاران [۱۶] به بررسی آلودگی با میکوپلازما‌های ژنیتال در ۱۷۴ زن مبتلا به واژینوز باکتریال پرداختند و نتایج کشت باکتری‌های اوره آپلازما اوره آلپتیکوم (۶۰/۶ درصد)، میکوپلازما هومینیس (۱۱/۳ درصد) و میکوپلازما ژنیتال‌یوم (۵/۷ درصد) را مورد مقایسه قرار دادند. این گروه با استفاده از روش کشت توانستند ۷۱ نمونه (۴۰/۸ درصد) میکوپلازما‌های ژنیتال را تشخیص دهند؛ درحالی که PCR از نمونه‌های کشت منفی نشان داد که ۱۴ نمونه 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 آپلازما و ۳/۶۳ درصد حامل میکوپلازما 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

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 Immunol*. 2014; 7(4): 588-93.

- [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 *Mycoplasmas* in genital tract. *Indian J Medical microbiology*. 2011; 15(1): 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 *Mycoplasmas*. *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 Urealyticum* in clinical samples from infertile women by polymerase chain reaction. *IJPT*. 2007; 6(1): 23-6.

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

Zohreh Ahmadiyan fard¹, 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.