Original Article

Frequency of *Mycoplasma genitalium* and *Mycoplasma hominis* among the women with vaginal infection in Robat Karim-Tehran (2013)

Onsory Kh[1*], Shahbani-Zahir H[2], Haji Mehdi Nouri Z[3], Abdolahi M[4]

1- Department of Biology, Faculty of Science, Islamic Azad University, Parand Branch, Parand, I. R. Iran.
2- Department of Microbiology, National Genetics Research Center, Tehran-Karaj Highway, Tehran, I. R. Iran.
3- Department of Cellular and Molecular Biology, Faculty of Science, Islamic Azad University, Sirjan Branch, Sirjan, I. R. Iran.
4- Department of Cellular and Molecular Biology, Pardis Building, Tehran University, Tehran, I. R. Iran.

Received July 11, 2015; Accepted December 11, 2015

Abstract:

Background: *Mycoplasma genitalium* and *Mycoplasma hominis* are among the major causes of vaginosis, which their detection is difficult in culture media. The aim of this study was to compare two detection methods (PCR and conventional culture media) for the determination of frequency of these bacteria among women with vaginal infection.
Material and Methods: For this purpose, we conducted a study for patients with bacterial vaginosis admitted to Imam Zaman and Imam Khomeini Hospitals (n=250) in comparison with healthy women with no vaginal infections (n=150). The extracted DNA was used as template to amplify 16srRNA coding gene using specific primers in two separate PCR reactions. Then the data were analyzed using the logistic regression at the $P<0.05$ significant level.
Results: The results indicated that 38% and 46.8% of *Mycoplasma genitalium* and *Mycoplasma hominis* were positive in culture, while this was the case in 68.8% and 77% of samples in PCR, respectively. The results show that the using PCR for molecular identification of bacteria is highly accurate, sensitive and particularly specific, where the culture negative samples were detected by this method.
Conclusion: For the detection of *Mycoplasma genitalium* and *hominis* among the vaginotic cases PCR is a highly reliable and sensitive method compared to the culture media. Using specific primers, PCR can confidently detect and separate infectious agents even in the genesis and species level.

Keywords: *Mycoplasma genitalium*, *Mycoplasma hominis*, Bacterial vaginosis, Culture, PCR

* **Corresponding Author.**
Email: onsory@gmail.com
Tel: 0098 0919 102 0890
Fax: 0098 216 607 0505

Conflict of Interests: ***No***

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, August, 2016; Vol. 20, No 3, Pages 244-251

Please cite this article as: Onsory Kh, Shahbani-Zahir H, Haji Mehdi Nouri Z, Abdolahi M. Frequency of *Mycoplasma genitalium* and *Mycoplasma hominis* among the women with vaginal infection in Robat Karim-Tehran (2013). ***Feyz*** 2016; 20(3): 244-51.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-02-14]

بررسی شیوع *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* و *مایکوپلاسما هومینیس* در بین زنان مبتلا به عفونت واژینال در شهر رباط کریم طی سال ۱۳۹۲

خدیجه عنصری[۱*]، حسین شهبانی ظهیر[۲]، زهرا حاجی مهدی نوری[۳]، منا عبداللهی[۴]

خلاصه:

سابقه و هدف: *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* و *هومینیس* از عوامل مهم واژینوز محسوب می‌شوند و شناسایی آنها توسط روش سنتی کشت دادن با مشکل مواجه است. هدف از انجام این تحقیق، بررسی شیوع این باکتری‌ها با به‌کارگیری تکنیک PCR در مقایسه با کشت در زنان مبتلا به عفونت می‌باشد.

مواد و روش‌ها: برای انجام این مطالعه مقطعی ۲۵۰ نفر بیمار مراجعه‌کننده به بیمارستان‌های امام خمینی و امام زمان(عج) استان تهران و ۱۵۰ نفر فرد سالم مورد بررسی قرار گرفتند. DNA استخراج شده از نمونه‌ها به‌عنوان الگو جهت تکثیر ژن کد کننده 16s rRNA با استفاده از پرایمرهای اختصاصی در دو واکنش PCR جداگانه استفاده شد.

نتایج: نتایج به‌دست آمده نشان داد که کشت *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* و *مایکوپلاسما هومینیس* به‌ترتیب در ۳۸ و ۴۶/۸ درصد موارد مثبت بود، درحالی‌که با مطالعه نمونه‌ها به روش PCR به‌ترتیب ۶۲ و ۷۷/۲ درصد از نمونه‌ها مثبت گزارش شدند. نتایج نشان‌دهنده آن است که برای شناسایی مولکولی این باکتری‌ها PCR از دقت، حساسیت و اختصاصیت ویژه‌ای برخوردار است، به‌طوری‌که نمونه‌های کشت منفی نیز با این روش قابل تشخیص می‌باشند.

نتیجه‌گیری: برای شناسایی عوامل عفونی در مبتلایان به واژینوز، روش مولکولی PCR به‌طور معنی‌داری نسبت به کشت از حساسیت بالاتری برخوردار بوده و با به‌کارگیری پرایمرهای اختصاصی می‌توان این عوامل بیماری‌زا را در حد جنس و گونه با دقت بیشتری مورد شناسایی قرار داد.

واژگان کلیدی: *مایکوپلاسما ژنیتالیوم*، *مایکوپلاسما هومینیس*، واژینوز باکتریایی، کشت، PCR

دو ماه‌نامه علمی- پژوهشی فیض، دوره بیستم، شماره ۳، مرداد و شهریور ۱۳۹۵، صفحات ۲۵۱-۲۴۴

مقدمه

واژینوز باکتریایی که قبلا بنام واژنیت گاردنرلایی نامیده می‌شد، عبارت است از تغییر در فلور باکتریایی طبیعی واژن که به کاهش لاکتوباسیل‌ها به‌ویژه سویه‌های مولد پراکسید هیدروژن و جایگزینی آنها با تعداد زیادی از باکتری‌ها ازجمله (*گاردنرلا واژینالیس*، *مایکوپلاسما هومینیس*، *اوره‌آ پلاسمااوره آلیتیکوم*، باسیل‌های بی‌هوازی، گونه‌های پپتواستریتوکوک، و موبیلونکوس) می‌انجامد [۲،۱].

مایکوپلاسماها قدرت رشد بسیار آرام و سخت در روی محیط‌های کشت مصنوعی دارند که سبب بیماری‌های مختلف در دستگاه ادراری-تناسلی، اختلال در تولید مثل و مرگ‌ومیر نوزادان می‌شود [۳]. یکی از مهم‌ترین این گونه‌ها که سبب بیماری‌های متنوعی در مردان، زنان و نوزادان می‌شود، *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* می‌باشد [۵،۴]. این باکتری به‌عنوان یکی از عوامل ایجادکننده عفونت‌های منتقله از راه جنسی در قسمت اوروژنیتال در مردان و زنان در سراسر دنیا محسوب می‌شود و اغلب سبب اورتریت، سرویسیت، واژینیت و اندومتریت حاد می‌شود [۶]. با روش PCR معمولی، میزان جداسازی *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* در انگلستان بین صفر تا ۶ درصد و در کشور نیوزیلند تا ۳۴/۴ درصد گزارش شده است [۷]. *مایکوپلاسما هومینیس* اولین باکتری با منشاء انسانی است که در سال ۱۹۷۳ جداسازی شد. این باکتری در واژن ۲/۳ درصد زنان مبتلا به واژینوز باکتریایی و ۱۰ درصد زنان سالم یافت می‌شود. در زنان باردار مبتلا به واژینوز باکتریایی، احتمال پارگی زودرس پرده‌های جنینی، زایمان زودرس و اندومتریت پس از سزارین افزایش می‌یابد. *مایکوپلاسما هومینیس* در پروستاتیت، تب پس از زایمان، سقط جنین خودبه‌خودی تکرار شونده، پیلونفریت، تولد نوزاد مرده، تولد نوزاد با وزن کم، پنومونی نوزادی و منتژیت

[۱] گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد پرند، پرند، ایران

[۲] گروه میکروبیولوژی، مرکز ملی تحقیقات ژنتیک، اتوبان تهران-کرج، ایران

[۳] دانشجوی دکتری گروه سلولی-مولکولی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد واحد سیرجان، سیرجان، ایران

[۴] دانشجوی دکتری گروه سلولی-مولکولی، دانشکده زیست شناسی، پردیس علوم، دانشگاه تهران، تهران، ایران

* **نشانی نویسنده مسئول:**

پرند، دانشگاه آزاد اسلامی واحد پرند، دانشکده علوم پایه، گروه زیست شناسی

تلفن: ۰۹۱۹ ۱۰۲۰۸۹۰ **دورنویس:** ۰۲۱۶۶۰۷۰۵۰۵

پست الکترونیک: onsory@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۴/۴/۲۰ **تاریخ پذیرش نهایی:** ۹۴/۸/۲۰

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-02-14]

نوزادی نیز نقش دارد [۸]. مایکوپلاسماها به‌واسطه برخی از خصوصیات نظیر فقدان دیواره سلولی، از باکتری‌های دیگر متمایز می‌شوند و به‌علت اندازه بسیار کوچک و نیز مشکلاتی که در زمینه کشت و جداسازی آنها وجود دارد، تاکنون کمتر مورد مطالعه و بررسی قرار گرفته‌اند [۹،۱۰]. به‌علت سخت‌رشدبودن، برای جدا-سازی گونه‌های آوره‌آپلاسما و *مایکوپلاسما هومینیس* به ۲ تا ۵ روز کشت بر روی محیط کشت‌های اختصاصی و برای *مایکو-پلاسما ژنیتالیوم* گاهی به بیش از ۸ هفته زمان کشت نیاز می‌باشد. به‌علت گرانی و ناپایداری این محیط‌ها، نیازمندی به فاکتورهای ضروری رشد در تهیه این محیط‌ها، دشواری تهیه این فاکتورها، کنترل دقیق pH محیط، نیازهای غذایی پیچیده، فرورفتن کلونی‌ها در آگار، میکروسکوپی بودن آنها و نیاز به پرسنل آزمایشگاهی با تجربه، کشت و جداسازی مایکوپلاسماها در کشور ما به‌طور معمول انجام نمی‌گیرد. بنابراین اهمیت و ضرورت بررسی این میکروارگانیسم‌ها با روش‌های نوین و سریع بیش از پیش احساس می‌شود. باتوجه به اهمیت بیماری‌های ایجاد شده توسط *مایکو-پلاسما ژنیتالیوم* و *مایکوپلاسما هومینیس* و عواقب وخیمی که به-دنبال دارد، لازم است افراد آلوده به‌سرعت شناسایی و درمان شوند. بنابراین تشخیص این ارگانیسم‌ها مسئله بسیار مهمی به شمار می‌آید. روش‌های مولکولی، از جمله واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) دارای پتانسیل زیادی جهت تشخیص دقیق و سریع این دو باکتری می‌باشد. و در نتیجه می‌تواند امکان شروع هرچه سریع‌تر درمان آنتی‌بیوتیکی بیماری را فراهم نماید. امروزه به‌طور گسترده‌ای از این تکنیک برای شناسایی عوامل میکروبی بیماری‌زا در نمونه‌های به‌دست آمده از بیماران استفاده می‌شود. تحقیقات نشان داده‌اند که با به‌کارگیری این تکنیک عوامل بیماری-زا در تعداد بیشتری از بیماران قابل شناسایی می‌باشند. اثبات عامل بیماری‌زا برای درمان بهینه بیماران بسیار ضروری است. روش‌های کشت فاقد حساسیت و اختصاصیت کافی هستند که این مشکلات ممکن است به‌واسطه درمان قبلی با آنتی‌بیوتیک‌ها و یا عوامل بیماری‌زایی باشد که کشت آنها ذاتاً مشکل می‌باشد. از این عوامل بیماری‌زا می‌توان به گونه‌هایی از جنس‌های بردتلا، لژیونلا، کو-کسیلا، و مایکوپلاسما اشاره کرد. بنابراین، هدف ما از انجام این تحقیق، بررسی به‌کارگیری تکنیک PCR برای تشخیص افتراقی *مایکوپلاسما هومینیس* و *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* در نمونه‌های به-دست آمده از زنان مبتلا به عفونت واژینال مراجعه‌کننده به بیمارستان‌های امام خمینی و امام زمان(عج) رباط کریم بود. هم-چنین، حساسیت این تکنیک در مقایسه با تکنیک کشت که به‌طور سنتی در آزمایشگاه‌ها پزشکی مورد استفاده قرار می‌گیرد مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

به‌منظور انجام این پژوهش مقطعی از ۲۵۰ نفر بیمار با علائم بالینی واژینوز باکتریایی و ۱۵۰ نفر فرد سالم بدون عفونت واژینال که از اردیبهشت ۱۳۹۲ تا آبان همان سال به بیمارستان‌های امام خمینی و امام زمان(عج) واقع در شهرستان رباط کریم مراجعه کرده بودند، نمونه‌گیری صورت گرفت. از افراد مورد مطالعه دو سواب تهیه شد، یکی در محیط کشت انتقالی PPLO و سواب دیگر در بافر فسفات (PBS) به آزمایشگاه انتقال داده شدند. از آنجایی‌که قابلیت زنده ماندن مایکوپلاسماها با افزایش درجه حرارت به‌سرعت کاهش می‌یابد، در طی انتقال، نمونه‌ها در محیطی خنک حمل گردید. پرسشنامه‌ای شامل اطلاعات بیماران از قبیل سن، سن ازدواج، سن اولین بارداری، دفعات بارداری، روش جلوگیری از بارداری، سابقه سقط جنین، استفاده از استخرهای عمومی، استفاده از پمادهای آنتی‌بیوتیک واژینال و استفاده از ژل-های معطر در اختیار افراد مورد مطالعه قرار گرفت. نمونه‌هایی که در محیط کشت انتقالی به آزمایشگاه انتقال داده شدند، بلافاصله با استفاده از سرنگ‌های ۵ میلی‌لیتری از فیلترهای سرسرنگی با قطر منافذ ۰/۴۵ میکرون عبور داده شدند. ۲۰ میکرولیتر از محلول فیلتر شده به داخل ۱۸۰ میکرولیتر محلول Arginine PPLO broth برای *مایکوپلاسما هومینیس* و ۲۰ میکرولیتر از همان محلول فیلتر شده در ۱۸۰ میکرولیتر محلول Glucose PPLO broth تلقیح شدند و پس از قرارگیری در انکوباتور CO_2 دار به‌منظور تامین ۷ تا ۱۰ درصد CO_2 در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. محیط‌ها به‌مدت ۸ هفته نگهداری شده و به‌طور روزانه از نظر تغییر رنگ بررسی شدند. در صورت مثبت بودن کشت *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* به‌دلیل تجزیه آنزیمی گلوکز توسط باکتری، اسید تولید می‌شود و pH محیط کشت را کاهش می‌دهد و رنگ قرمز محیط کشت به‌علت وجود فنول‌رد به رنگ زرد تغییر می‌یابد. *مایکو-پلاسما هومینیس* با مصرف آرژنین، مواد قلیایی تولید می‌کند و pH محیط کشت را افزایش داده و رنگ زرد محیط کشت به‌علت وجود فنول‌رد به رنگ قرمز تغییر می‌یابد که از همین ویژگی به-منظور شناسایی استفاده شد. به محض مشاهده تغییر رنگ محیط کشت مایع، از آنها برای کشت باکتری در محیط جامد Arginine/glucose PPLO Agar استفاده شد و پلیت‌ها به-مدت ۲ الی ۵ روز در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور CO_2 دار گرماگذاری شدند. در طی این مدت پلیت‌ها در زیر میکر-وسکوپ مورد بررسی قرار گرفتند. DNA کروموزومی از تمام

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-02-14]

نمونه‌های بافرهای انتقالی که بدین منظور تهیه شده بود، با استفاده از کیت استخراج DNA باکتری‌های گرم منفی (مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران)، استخراج گردید و به‌عنوان الگو برای تکثیر ژن 16s rDNA با استفاده از پرایمرهای اختصاصی [۱۱] *مایکو-پلاسما هومینیس* (Mh) و *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* (Mg) در تکنیک PCR مورد استفاده قرار گرفت (جدول شماره ۱). واکنش PCR در حجم نهایی µl ۲۵ و در ۳۵ سیکل با دمای اولیه ۹۵ درجه سانتی‌گراد، دمای ۶۲ درجه برای اتصال پرایمر در *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* و ۵۹/۵ برای *مایکوپلاسما هومینیس* و دمای ۷۲ درجه برای ادامه واکنش هر یک به‌مدت یک دقیقه صورت گرفت.

جدول شماره ۱- توالی پرایمرها

کاربرد	ژن هدف	توالی پرایمرها
F-Mg		3-'AGTTGATGAAACCTTAACCCCTTGG-5'
R-Mg		3-'GACCATCAAGGTATTTCTCAACAGC-5'
F-Mh		3'-TGAAAGGCGCTGTAAGGCGC-5'
R-Mh		3′-TAATCCTGTTTGCTCCCCAC-5'

اطلاعات به‌دست آمده با استفاده از نرم‌افزار SPSS ویرایش ۲۱ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. متغیرهای کمی به‌صورت میانگین و انحراف معیار و متغیرهای کیفی به‌صورت درصد گزارش شدند. جهت مقایسه متغیرهای کیفی و مقایسه درصد آنها از آزمون‌های Chi Squre و Cross tabs استفاده شد. رگرسیون لجستیک، Odds Ratio، Confidence Interval (CI) برای بررسی متغیرها استفاده شده است و سطح $P<۰/۰۵$ برای معنی‌دار بودن اختلاف در نظر گرفته شد.

نتایج

محدوده سنی بیماران بین ۱۸ تا ۷۱ سال با میانگین سنی ۴۴/۵ سال و محدوده سنی گروه کنترل بین ۱۹ تا ۷۵ سال با میانگین سنی ۴۷ سال بود. افراد رده سنی ۱۸-۴۴ سال درصد بیشتری (۶۹/۲) را در بین بیماران در مقایسه با گروه کنترل به‌خود اختصاص داده بودند. افرادی که رعایت بهداشت در تعویض به-موقع لباس زیر نداشتند، درصد بیشتری از افراد مورد مطالعه بین دو گروه بیمار و کنترل را تشکیل می‌دادند. ارتباط معنی‌داری بین عدم رعایت وضعیت مناسب بهداشت و خطر ابتلا به عفونت باکتریایی مشاهده نشد ($P=۰/۴۹$). بیشترین تعداد شرکت کنندگان بیش از دو فرزند داشتند و از لحاظ آماری ارتباط مثبتی بین شیوع بیماری و تعداد زایمان وجود داشت ($P=۰/۰۱$) (جدول شماره ۲).

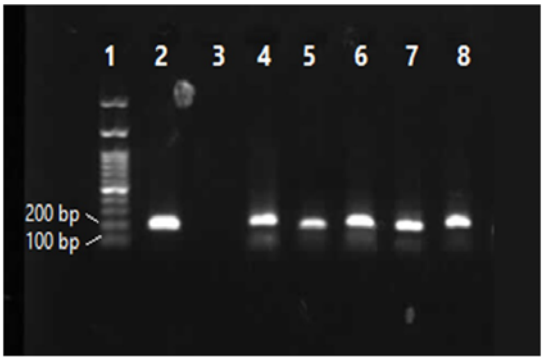
جدول شماره ۲- خصوصیات دموگرافیک افراد حاضر در گروه‌های مطالعه

خصوصیات مورد بررسی	بیماران (درصد)	کنترل (درصد)	OR (95% CI)	P
سن (سال)	۷۱-۱۸	۷۵-۱۹		
میانگین±انحراف معیار	۴۴/۵±۱۲/۴۳	۴۷±۱۴/۳۹		
۴۴-۱۸	۱۷۳ (۶۹/۲)	۸۹ (۵۹/۳)		
۷۱-۴۵	۷۷ (۳۰/۸)	۶۱ (۴۰/۶)		
تعویض به موقع لباس زیر				
مناسب	۹۳ (۳۷/۲)	۶۱(۴۰/۶)		
نامناسب	۱۵۷ (۶۲/۸)	۸۹(۵۹/۳)	۰/۸۶ (۰/۵۷-۱/۳۰)	۰/۴۹
تعداد زایمان				
۰	۲۹ (۱۱/۶)	۳۱ (۲۰/۶)		
۲>	۲۲۱ (۸۸/۴)	۱۱۹ (۴۷/۶)	۰/۵۰(۰/۲۹-./۸۷)	۰/۰۱

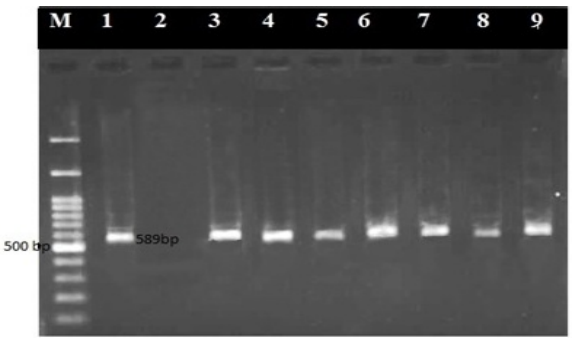
شناسایی سویه‌های مایکوپلاسما به‌روش PCR با تعیین توالی ژن 16s rDNA

استفاده از PCR با پرایمرهای اختصاصی جهت تکثیر ژن 16s rDNA منجر به تولید قطعاتی به‌طول ۱۹۴bp برای *مایکو-پلاسما ژنیتالیوم* (شکل شماره ۱) و ۵۸۹bp برای *مایکوپلاسما هومینیس* گردید که به‌صورت باند منفرد بر روی ژل آگاروز (۱/۵ درصد) مشاهده شدند (شکل شماره ۲). محصولات PCR برای تعیین توالی ارسال شدند و توالی‌های به‌دست آمده با استفاده از نرم‌افزار BLAST در سایت NCBI مورد تایید قرار گرفت. نتایج نشان دادند که با استفاده از این توالی‌ها می‌توان به‌طور اختصاصی وجود باکتری‌های *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* و *مایکوپلاسما هومینیس* را بدون نیاز به کشت در نمونه‌های بیمار تایید کرد.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-02-14]



شکل شماره ۱- ژل آگاروز محصول PCR *مایکوپلاسما ژنیتالیوم*
ردیف ۱: مارکر، ردیف ۲: کنترل مثبت، ردیف ۳: کنترل منفی، و ردیف‌های ۴ تا ۸: نمونه‌های مثبت



شکل شماره ۲- ژل آگارز محصول PCR *مایکوپلاسما هومینیس*
ردیف M: مارکر، ردیف ۱: کنترل مثبت، ردیف ۲: کنترل منفی، و ردیف‌های ۳ تا ۹: نمونه‌های مثبت

جدول شماره ۳- فراوانی *مایکوپلاسما هومینیس* و *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* در کشت و PCR نمونه‌های جدا شده از افراد شرکت کننده در مطالعه

	کشت تعداد (درصد)		PCR تعداد (درصد)	
مایکوپلاسما ژنیتالیوم	مثبت	منفی	مثبت	منفی
کنترل	۰	۱۰۰(۱۰۰)	۹(۶)	۱۴۱(۹۴)
بیمار	۹۵(۳۸)	۱۷۲(۶۸)	۱۵۵(۶۲)	۷۸(۳۱/۲)
مایکوپلاسما هومینیس				
کنترل	۰	۱۰۰(۱۰۰)	۱۱(۷/۳)	۱۵۰(۹۲/۶)
بیمار	۱۱۷(۴۶/۸)	۱۳۳(۵۳/۲)	۱۹۳(۷۷/۲)	۵۷(۲۲/۸)

در مطالعاتی که بر روی سرویسیت انجام گرفته است فراوانی *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* در نیوزیلند ۴/۸ درصد [۱۲]، در فرانسه ۳۸/۲ درصد [۱۳]، در آمریکا ۷ درصد [۱۴]، در ونزوئلا ۷/۶ درصد [۱۵]، در کنیا ۱۷/۲ درصد [۱۵]، در نروژ ۴/۵ درصد [۱۶] و در سودان ۵ درصد [۱۷] گزارش شده است. در بین مایکو-

در این مطالعه حضور *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* در گروه بیمار در محیط کشت ۹۵ نمونه (۳۸ درصد) مشاهده شد. نتایج PCR نشان می‌دهد که از ۲۵۰ بیمار مورد مطالعه، ۱۵۵ مورد (۶۲ درصد) PCR مثبت شدند. در مرحله کشت، ۱۱۷ مورد (۴۶/۸ درصد) کلونی تخم مرغی شکل *مایکوپلاسما هومینیس* جداسازی شده و مورد شناسایی قرار گرفت، درحالی‌که ۱۹۳ نمونه (۷۷/۲ درصد) در روش PCR مثبت اعلام گردید. در یک مورد باوجود مشاهده تغییر رنگ محیط PPLO مایع از زرد به قرمز، علی‌رغم حضور مایکوپلاسما، کلونی تخم مرغی شکل در محیط PPLO آگار مشاهده نگردید، ولی از طریق تکنیک PCR همین نمونه مثبت شده و حضور *مایکوپلاسما هومینیس* تایید گردید (جدول شماره ۳).

بحث

باتوجه به نتایج به‌دست آمده از مطالعه حاضر، شناسایی *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* و *مایکوپلاسما هومینیس* با روش PCR نسبت به روش کشت از اطمینان و دقت بیشتری برخوردار است. از طرف دیگر اطلاعات به‌دست آمده نشان‌دهنده ارتباط مستقیم این میکروارگانیسم با ابتلای افراد به بیماری واژینوز باکتریایی می‌باشد. در مطالعات مختلف شیوع متفاوتی از مایکوپلاسماهای تناسلی در نقاط مختلف جهان گزارش شده است.

پلاسماهای جدا شده از انسان نقش *مایکوپلاسما هومینیس*، به‌عنوان ارگانیسم فرصت طلب ایجاد کننده عفونت در دستگاه ژنیتال به اثبات رسیده است. مایکوپلاسماهای ژنیتال به‌ویژه *مایکوپلاسما هومینیس* و *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* ساکن طبیعی دستگاه ادراری- تناسلی مردان و زنانی است که فعالیت جنسی دارند [۱۸]. با توجه به یافته‌های مطالعه حاضر، تعداد نسبتا بالایی از زنان دارای عفونت واژینوز باکتریایی، آلوده به *مایکوپلاسما هومینیس* و *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* می‌باشند. چنانچه اشاره شد حضور *مایکوپلاسما هومینیس* در مجاری ادراری- تناسلی اغلب بدون علامت بالینی می‌باشد و با عواقب خطرناک این عفونت‌ها از جمله عفونت التهابی لگن و نا-باروری غربالگری میکروبی برای زنان و همسران‌شان به‌خصوص در سنین جوانی امری اجتناب ناپذیر است [۲۰،۱۹]. چون کشت *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* ۸ هفته و کشت *مایکوپلاسما هومینیس* ۲ تا ۵ روز طول می‌کشد، مطالعات نشان می‌دهد که روش‌های تکثیر DNA، یک روش سریع و حساس‌تر از کشت است [۱۹،۱۸]. نتایج نشان می‌دهد که PCR روش مناسبی برای جداسازی *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* و *مایکوپلاسما هومینیس* می‌باشد [۲۱]. از طرفی چون روش کشت بسیار طولانی و وقت‌گیر می‌باشد، امکان

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-02-14]

دسترسی به نتایج مطلوب در زمان کوتاه امکان پذیر نیست. با اینکه *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 به‌هنگام نمونه برداری و یا انتقال به آزمایشگاه ممکن است باکتری ضعیف شده و یا از بین برود و در محیط‌های کشت قابل شناسایی نباشد. از طرفی، مایکوپلاسماها به‌دلیل فقدان دیواره سلولی، در برابر شرایط محیطی حساس‌اند و نتایج کشت می‌تواند به‌صورت کاذب منفی باشد، درحالی‌که PCR روشی حساس، سریع و دارای ویژگی‌های بالا و اختصاصی بوده و می‌تواند حتی DNA باکتری‌های مرده را نیز تشخیص دهد. در مطالعه Luki و همکاران با روش PCR، ۳/۶ درصد *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* در زنان باردار مشاهده شده است که از مطالعه حاضر کمتر می‌باشد و می‌تواند ناشی از تعداد نمونه، گروه مورد مطالعه و نوع PCR باشد [۲۲]. در مورد میزان جداسازی *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* از نمونه‌های بالینی در ایران مطالعات اندکی صورت گرفته است. وطنی و همکاران به جداسازی این باکتری از افراد مبتلا به عفونت‌های تناسلی پرداخته و این میزان را حدود ۲ درصد گزارش نموده‌اند [۶]. در مطالعه دیگر، ۵/۷ درصد از جمعیت مورد مطالعه آلوده به *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* بودند [۲] که با مطالعه Luki و همکاران [۲۲] مطابقت نسبی داشته، ولی از مطالعه حاضر کمتر بود. در مطالعه حاضر شیوع *مایکوپلاسما هومینیس* توسط روش کشت ۴۶/۸ درصد بوده، درحالی‌که با تکنیک PCR ۷۷/۲ درصد می‌باشد. شیوع این باکتری با روش کشت از ۵ درصد در کشور مکزیک تا ۲۶ درصد در ترکیه متغیر بوده است [۲۴،۲۳]. در کانادا شیوع *مایکوپلاسما هومینیس* ۱۰/۹ درصد گزارش شده است [۲۴]. در مطالعه‌ای که حسنی و همکاران در سال ۱۳۸۹ بر 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 [۲۵]. وطنی و همکاران در سال ۱۳۸۵ روی ۱۷۴ بیمار مطالعه‌ای مبنی بر بررسی آلودگی با مایکوپلاسماهای ژنیتال در زنان مبتلا به واژینوز باکتریایی کشت منفی انجام دادند که در نتیجه ۵۹/۳ درصد بیمارانی که نتیجه کشت آنها منفی بود، در PCR، مثبت اعلام شدند [۶]. در مطالعه دیگری که مظفری و همکاران در سال ۱۳۸۷ در دانشگاه ایران بر روی ۲۰۵ نمونه گرفته شده از خانم‌ها انجام دادند، ۷/۷۶ درصد *مایکوپلاسما هومینیس* توسط کشت مثبت شد [۲۶]. در مطالعه دیگری نیاکان و همکاران در سال ۱۳۸۸ در تهران با مطالعه بر روی ۵۶ زوج جهت بررسی میزان فراوانی باکتری‌های *مایکوپلاسما هومینیس* و *اوره‌آپلاسما اورآلیتیکوم* بین خانم‌های نابارور در مقایسه با آلودگی همسران آنها با روش کشت انجام دادند، نشان دادند که ۳۹/۲۹ درصد خانم‌ها و ۱۹/۶۴ درصد مردان، مبتلا به *مایکوپلاسما هومینیس* هستند که نسبت به مطالعه حاضر میزان کمتری را نشان می‌دهد. البته در بررسی انجام شده توسط نیاکان تعداد افراد مورد بررسی محدود بوده (۴۰ مرد نابارور) که نمی‌توانست آمار صحیحی از شیوع این میکروارگانیسم را نشان دهد [۲۷]. در مطالعه حاضر میانگین سنی بیماران ۴۴/۵ بوده و ارتباط معنی‌داری بین کلونیزاسیون *مایکوپلاسما هومینیس* و *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* بر اساس سن بیماران مشاهده شد، به‌طوری‌که بیشترین درصد کلونیزاسیون این ارگانیسم (۶۹/۲ درصد) در افرادی بود که در سنین ۱۸ تا ۴۴ سال بودند. در مطالعه موسویان و همکاران نشان داده شد در کسانی که در سن فعالیت جنسی هستند، میزان این باکتری بیشتر است که با مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد. به‌نظر می‌رسد فعالیت جنسی زیاد، بیش از سن در کلونیزاسیون این باکتری نقش داشته باشد [۹]. در مطالعه‌ای که مظفری و همکاران بر روی ۲۰۵ بیمار دارای عفونت دستگاه تناسلی ادراری مراجعه‌کننده به بیمارستان‌های دانشگاه علوم پزشکی ایران در سال ۱۳۸۶ در تهران انجام دادند، ۱۶ مورد (۷/۷ درصد) از نظر *مایکوپلاسما هومینیس* مثبت بودند. بیشترین موارد مثبت در گروه سنی ۳۹-۲۹ سال دیده شد. این نتایج مشابه مطالعات صورت گرفته در کشورهای هند و ترکیه بود که ناشی از نزدیکی فرهنگ این کشورها با ایران می‌باشد [۲۶]. هم‌چنین، در بین بیماران، افرادی که عدم رعایت بهداشت در تعویض به‌موقع لباس زیر خود داشتند، بیشترین درصد مبتلایان (۶۲/۸ درصد) را به‌خود اختصاص دادند و خطر آلودگی آنها به این دو باکتری افزایش داشته، ولی از نظر آماری معنی‌دار نبوده است (P=۰/۴۹). در مطالعه حاضر ۱۲۴ نفر (۳۸/۸ درصد) از بیماران بیش از دو زایمان داشتند و ارتباط معنی‌دار بین حضور *مایکوپلاسما هومینیس* و *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* و این متغیر مشاهده شد (P=۰/۰۱). در مجموع از بین ۲۵۰ زن مبتلا به واژینوز باکتریال، در ۱۵۵ مورد (۶۲ درصد) آلودگی به *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* با روش PCR و در ۹۵ مورد (۳۸ درصد) در روش کشت مشاهده شد. آلودگی به *مایکوپلاسما هومینیس* در روش کشت در ۴۶/۸ درصد موارد مثبت شد و در روش PCR ۷۷/۲ درصد نمونه‌ها شناسایی شدند. به‌همین دلیل استفاده از کشت به‌تنهایی منجر به عدم شناسایی و تشخیص تعداد متنابهی از عفونت مایکوپلاسمایی خواهد شد. بر این اساس استفاده از روش مولکولی PCR جهت شناسایی باکتری پیشنهاد می‌گردد. از

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-02-14]

آنجایی‌که نمونه‌ها از بیمارستان‌های امام خمینی و امام زمان(عج) واقع در شهرستان رباط کریم استان تهران جمع‌آوری شده است، پایین بودن سطح اجتماعی و فرهنگی مردم آن منطقه می‌تواند یکی از دلایل درصد بالای مبتلایان به عفونت واژینال در بین بیماران مراجعه‌کننده به این مرکز درمانی باشد. هم‌چنین، همان‌طور که مشاهده می‌شود در مطالعات گوناگون شیوع *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* متفاوت گزارش شده است که این امر می‌تواند ناشی از نوع مطالعه، جمعیت مورد مطالعه (مصرف آنتی بیوتیک- وجود شرکای جنسی و غیره)، تعداد نمونه، روش نمونه گیری، سن بیماران، نژاد، فرهنگ و منطقه جغرافیایی و روش آزمایشگاهی (کشت و PCR) باشد.

نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر نشان داد که استفاده از تکنیک PCR برای شناسایی مولکولی *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* و *مایکوپلاسما هومینیس* در زنان مبتلا به واژینوز باکتریال از کارایی قابل توجهی برخوردار می‌باشد، به‌طوری‌که علاوه بر نمونه‌هایی که با روش کشت شناسایی شده بودند، در تعداد زیادی از نمونه‌های کشت منفی نیز با این روش وجود عامل بیماری‌زا تشخیص داده شد. شاید بتوان چنین نتیجه‌گیری کرد که علاوه بر حساسیت زیادتر، روش PCR از اختصاصیت کافی برای تفکیک این دو گونه بیماری‌زا از یکدیگر برخوردار می‌باشد.

تشکر و قدردانی

از پرسنل بیمارستان‌های امام خمینی و امام زمان(عج) واقع در شهرستان رباط کریم که در جمع‌آوری نمونه‌ها ما را یاری دادند، نهایت تشکر و قدردانی را داریم. هم‌چنین، از بخش پژوهش و فناوری دانشگاه آزاد اسلامی واحد پرند که پشتیبانی مالی این طرح تحقیقاتی را بر عهده داشتند، صمیمانه قدردانی می‌گردد.

References:

[1] Ganjavi T, Shahabi M. Epidemiology and Risk Factors of Bacterial Vaginosis in Women Visiting the Gynecologic Clinic of Bahonar Hospital of Kerman University of Medical Sciences in 2002. ***J Kerman Univ Med Sci*** 2003; 10(4): 200-10. [in Persian]

[2] Manhart LE, Critchlow CW, Heoles KK, Dutro SM, Eschenbach DA, Strens CE, et al. Mucopurulent cervitis and mycoplasma genitalium. ***J Infect Dis*** 2003; 187(4): 650-7.

[3] Serin MS, Evruke C, Kibar F, Koksal F. Comprison of PCR and Cultivation Methods to Determine the Incidence of Infection Due to Mycoplasma hominis and Mycoplasma Fermentans in Women Genithourinary Tract. ***Eastern J Med*** 2001; 6(2): 48-52.

[4] Waites KB, Katz B, Schelonka RL. Mycoplasmas and ureaplasmas as neonatal pathogens. ***Clin Microbiol Rev*** 2005; 18(4): 757-89.

[5] Razin S, Herrmann R. Molecular biology and pathogenicity of Mycoplasmas. 1th ed. Kluwer Academic/Plenum Publishers New York.

[6] 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 Univ Med Sci*** 2006; 8(1): 45-50. [in Persian]

[7] 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*** 2008; 77(4): 294-8.

[8] Westberg J, Persson A, Holmberg A, Goesmann A, Lundeberg J, Johansson KE, et al. The genome sequence of Mycoplasma mycoides subsp. mycoides SC type strain PG1T, the causative agent of contagious bovine pleuropneumonia (CBPP). ***Genome Res*** 2004; 14(2): 221-7.

[9] Mosavian M, Motamedi H, Maleki S. A comparison of mycoplasma hominis and ureaplasma urealyticum in women with urogenital infection using multiplex PCR and culture methods. ***Med J Tabriz Univ Med Sci*** 2011; 33(5): 91-7.

[10] Karimzadeh M, Taheripanah R. Infection agent in recurrent miscarriage. ***J Reproduction Infertility*** 1989; 24-34.

[11] Naher HS, Said IH. Culturing and PCR Methods for Detection of Mycoplasma Hominis and Ureaplasma urealyticum in Women with Genitourinary Tract Infections. ***Int Res J Med Sci*** 2013; 1(3): 25-9.

[12] Oliphant J, Azariah S. Cervicitis: limited clinical utility for the detection of Mycoplasma genitalium in a cross-sectional study of women attending a New Zealand sexual health clinic. ***Sexual Health*** 2013; 10(3): 263-7.

[13] Casin I, Vexiau-Robert D, De La Salmoniere P, Eche A, Grandry B, Janier M. High prevalence of Mycoplasma genitalium in the lower genitourinary tract of women attending a sexually transmitted disease clinic in Paris, France. ***Sex Transm Dis*** 2002; 29(6): 353-9.

[14] Johannisson G, Enstrom Y, Lowhagen GB, Nagy V, Ryberg K, Seeberg S, et al. Occurrence and treatment of Mycoplasma genitalium in patients visiting STD clinics in Sweden. ***Int J STD AIDS*** 2000; 11(5): 324-6.

[15] Arraiz RN, Colina CS, Marcucci JR, Rondon GN, Reyes SF, Bermudez PV, et al. Mycoplasma genitalium detection and correlation with clinical manifestati,ons in population of the Zulia State, Venezuela. ***Rev Chilena Infectol*** 2008; 25(4): 256- 61.

[16] Manhart LE, Mostad SB, Baeten JM, Astete SG, Mandaliya K, Totten PA. High Mycoplasma genitalium organism burden is associated with

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-02-14]

shedding of HIV-1 DNA from the cervix. ***J Infect Dis*** 2008; 197(5): 733-6.
[17] Moi H, Reinton N, Moghaddam A. Mycoplasma genitalium is associated with symptomatic and asymptomatic non-gonococcal urethritis in men. ***Sex Transm Infect*** 2009; 85(1): 15-8.
[18] Rosemond A, Lanotte P, Watt S, Sauget AS, Guerif F, Royere D, et al. Systematic Screening Tests for Chlamydia Trachomatis, Mycoplasma hominis and Ureaplasma urealyticum in Urogenital Specimens of Infertile Couples. ***Pathol Biol (Paris)*** 2006; 54(3): 125-29.
[19] Coskun E, Ozkan S, Vural B. Impact of Genital Infection on Fertility. ***J Turkish German Gynecol Assoc*** 2005; 6(3): 197-203.
[20] Gilbert GL. Treatment of chlamydial and mycoplasmal genital infections. ***Med J Aust*** 1987; 146(4): 205-8.
[21] 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 infection. ***Eur J Clin Microbiol Infect Dis*** 1998; 17(4): 255-63.
[22] Robertson JA. Potential Virulence Factors of Ureaplasma urealyticum. ***Pediatr Infect Dis*** 1986; 5 (6 Suppl): 322-4.
[23] Watson RA. Gonorrhea and Acute Epididymitis. ***Mil Med*** 1979; 144(12): 785-6.
[24] Weidner W, Brunner H, Krause W. Quantitative Culture of Ureaplasma urealyticum in Patient With Chronic Prostatitis or Prostatosis. ***J Urol*** 1980; 124(5): 622-5.
[25] Hasani A, Shahrokhi N, Khazardust S, Sarshar M, Takrosta N, Norozi J. Detection of Ureaplasma urealyticum and Mycoplasma hominis Bacteria in Patients with Genital Infection by PCR. ***Faslname Bimarihaye Ofoni va Garmsiri*** 2012; 17(58): 45-50.
[26] Amirmozafari N, Jeddi F, Masjedian F, Haghighi L. Prevalence of Mycoplasma hominis and Ureaplasma urealyticum in Genitourinary Tract Infections. ***J Iran Med Sci*** 2008; 60(15): 19-23.
[27] Nikan M, Ghafari M, Abedi F. The Abundance of Bacteria, Mycoplasma hominis and Ureaplasma urealyticum Infection in Women with Infertile Husbands. ***J Kermanshah Univ Med Sci*** 2009; 3(13): 197-202. [in Persian]

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-02-14]