

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

زهرا حاجی مهدی نوری^۱، دکتر خدیجه عنصری*^۲، دکتر هایده مبین^۳، سارا طالب زاده^۴، منا موسوی^۵

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 میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران. ۴- کارشناس ارشد میکروبیولوژی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، واحد پرند، دانشگاه آزاد اسلامی، پرند، ایران. ۵- کارشناس ارشد، ژنتیک مولکولی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه سیستان و بلوچستان، زاهدان، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: مایکوپلازما 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 میکروبیولوژی کشت با مشکل روبرو است. این مطالعه به منظور مقایسه دو روش کشت و PCR در تشخیص عفونت واژینال ناشی از مایکوپلازما 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) مراجعه‌کننده به بیمارستان‌های امام‌خیمینی (ره) و امام‌زمان (حج) استان تهران انجام شد. پس از نمونه‌برداری، نمونه‌ها در داخل لوله‌های حاوی PBS و PPLO به آزمایشگاه منتقل گردید. **یافته‌ها:** با روش کشت از ۱۵۰ نمونه بیمار مبتلا به عفونت واژینال، ۵۳ نمونه (۳۵/۳ درصد) از نظر وجود مایکوپلازما هومینیس مثبت و از طریق PCR ۱۱۴ نمونه (۷۶ درصد) مثبت گزارش شد. همچنین با روش PCR از ۵۰ فرد گروه کنترل ۴ نفر (۸ درصد) مثبت ارزیابی شدند. بین نتایج PCR با سقط جنین، محل زندگی و سطح تحصیلات ارتباط آماری معنی‌داری مشاهده نشد. ارتباط مستقیمی بین سن افراد، رعایت بهداشت در تعویض به موقع لباس زیر و تعداد زایمان در گروه مبتلا مشاهده شد ($P < 0/05$). **نتیجه‌گیری:** روش PCR در مقایسه با روش کشت، برای شناسایی موارد مثبت مایکوپلازما هومینیس در زنان با عفونت واژینال مناسب‌تر است.

کلید واژه‌ها: مایکوپلازما هومینیس، عفونت واژینال، کشت، PCR

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

نشانی: اتوبان تهران - ساوه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد پرند، دانشکده علوم پایه، گروه زیست‌شناسی، تلفن ۰۲۱-۵۶۷۳۳۰۴۹، نمابر ۶۶۰۷۰۵۰۵
وصول مقاله: ۹۳/۹/۱۵، اصلاح نهایی: ۹۳/۱۲/۱۷، پذیرش مقاله: ۹۴/۲/۱۵

مقدمه

بیولوژیک مانند عدم رنگ‌پذیری با رنگ آمیزی گرم و عدم حساسیت به بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌های معمول مثل بتالاکتام‌ها هستند و به ارگانیسم‌های شبه پلورو پنومونی (PPLO) (Pleuro Pneumonia-like Organisms) مشهور هستند. به واسطه 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 (۶۵). این ارگانیسم‌ها به وسیله ارگانل‌های سطحی خود به سطوح مخاطی تناسلی می‌چسبند و با توجه به قدرت بالای کلونیزاسیون در اندوسرویکس، سبب عوارض خطر آفرین برای مادر و نوزاد می‌گردند. مایکوپلازماها از مرحله بلاستوسیت دوره جنینی ممانعت به عمل آورده و موجب مسمومیت تخمک می‌گردند. علاوه بر آن، با تغییر اسیدیته واژن، موجب

مایکوپلازماهای ژینتال عامل عفونت دستگاه ادراری - تناسلی است. مایکوپلازما هومینیس با واژینوز باکتریایی، بیماری التهابی لگن، پیلو نفریت، اندومتریت، پروستاتیت، تب بعد از زایمان، تب بعد از سقط جنین، سقط جنین خودبه‌خودی تکرار شونده، تولد نوزاد با وزن پایین و منتریت نوزادی ارتباط دارد (۱ و ۲). مایکوپلازما 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

استفاده شد. پس از تشکیل کلنی تخم مرغی شکل مایکوپلازما هومینیس، رنگ آمیزی 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 مایکوپلازما هومینیس

موضوع	توالی	ژن هدف
PCR	F-3 -TGAAAGGCGCTGTAAGGCGC-5 R-5 TAATCCTGTTGCTCCCCAC-3	16srRNA
bp	589	

واکنش PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر در نظر گرفته شد. مخلوط واکنش شامل ۱۰ میکرولیتر از (2X) Master mix، نیم میکرولیتر از هر یک از پرایمرها (غلظت نهایی ۵۰۰ nM)، نیم میکرولیتر از DNA الگو و ۱۳/۵ 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.

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS-21 تجزیه و تحلیل شدند. برای ارتباط بین متغیرها و خطر ابتلا به مایکوپلازما 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 مایکوپلازما هومینیس در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

با روش کشت از ۱۵۰ نمونه، ۵۳ نمونه (۳۵/۳ درصد) از نظر وجود مایکوپلازما 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 مایکوپلازما 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 مایکوپلازما کلنی تخم‌مرغی شکل در محیط PPLO آگار مشاهده نگردید؛ ولی با تکنیک PCR نیز

کاهش تعداد و کارایی اسپرم و نازایی می‌گردند (۷). فراوانی مایکوپلازما هومینیس در زنان بیش از مردان گزارش شده است (۷). در صورت عدم تشخیص، پیشگیری و درمان مناسب، عفونت‌های مایکوپلازمایی به طور مستمر باقی می‌ماند و منجر به عواقب خطرناکی مانند بیماری التهابی لگن و ناباروری می‌گردند (۸-۱۰). به دلیل سخت رشد بودن و حساس بودن مایکوپلازما 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 مایکوپلازما 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 آزمودنی‌ها 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 CO2 دار انکوبه گردید. مایکوپلازما 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

جدول ۲: نتایج کشت و PCR از نظر فراوانی مایکوپلازما 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 (۶۴/۷)	۱۱۴ (۷۶)	۳۶ (۲۴)
کنترل	۰ (۰)	۱۰۰ (۱۰۰)	۴ (۸)	۴۶ (۹۲)

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

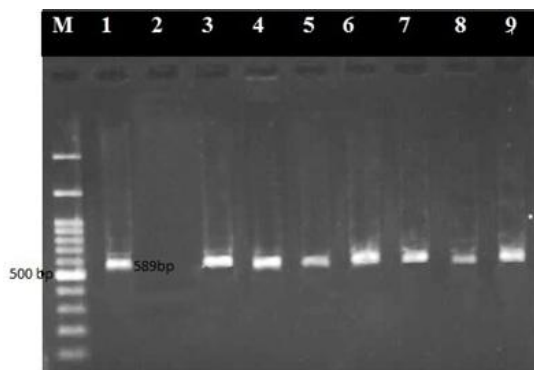
	کشت و PCR مثبت (درصد)		کشت منفی و PCR مثبت (درصد)		کشت و PCR منفی (درصد)	
	بیمار	۵۳ (۳۵/۳)	۶۱ (۴۰/۶)	۰ (۰)	۳۶ (۲۴)	۴۶ (۹۲)
کنترل	۰ (۰)	۴ (۸)	۰ (۰)	۴۶ (۹۲)	۰ (۰)	۰ (۰)

جدول ۴: توزیع آлл‌ها بین بیماران مبتلا به عفونت واژینال و افراد سالم (کنترل)

p-value	متغیرها	بیمار		کنترل		نسبت شانس	فاصله اطمینان ۹۵ درصد
		تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)		
	۱۸-۳۳	۱۹ (۵۹/۳)	۲۲ (۴۴)	۱			
۰/۰۱*	سن (سال)	۴۸-۳۴	۴۸ (۳۲)	۱۸ (۳۶)	۱/۲-۸/۰۲	۳/۱۲	
۰/۱۵	۴۹-۶۳	۱۳ (۸/۶)	۱۰ (۲۰)	۱	۵/۵-۰/۷۶	۲/۰۵	
	رعایت بهداشت در تعویض لباس	مناسب نامناسب	۱۹ (۱۲/۷)	۴۳ (۸۶)	۷ (۱۴)	۳/۸۹	۲/۲۴-۰/۳۵
۰/۰۳*	صفر	۴۰ (۲۶/۶)	۶ (۱۲)	۱	۷/۹۱-۱/۱۷	۱	
۰/۰۲*	تعداد زایمان (دفعه)	۱-۲	۴۰ (۲۶/۶)	۱۲ (۲۴)	۷/۹۱-۱/۱۷	۳/۰۴	
۰/۲۸	پیش از ۲	۷۰ (۴۶/۶)	۳۲ (۶۴)	۱/۵۲	۲/۲۸-۰/۷۰	۱/۵۲	

$P < 0.05^*$

پس از انجام واکنش PCR، محصول PCR، ۵۸۹-bp بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد مشاهده شد. نمونه‌های آلوده به مایکوپلازما 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 مایکوپلازما 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 مایکوپلازما هومینیس در زنان با عفونت واژینال ارجح تر بود.

همین نمونه مثبت و حضور مایکوپلازما 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 هیچ یک از موارد کشت مثبت، PCR منفی مشاهده نشد (جدول ۳).

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

بیماران در محدوده سنی ۱۸-۶۳ سال و میانگین سنی ۳۳/۸±۹/۵۴ سال بودند. افراد سالم (کنترل) در محدوده سنی ۱۹-۸۱ سال و میانگین سنی ۳۷/۴±۱۴/۳۹ سال بودند. ارتباط آماری معنی‌داری بین افراد دارای سن ۳۴-۴۸ سال و افزایش خطر عفونت مایکوپلازما هومینیس مشاهده شد ($P < 0.01$).

ارتباط آماری معنی‌داری بین عدم رعایت موازین بهداشتی در مورد تعویض لباس ($P < 0.03$) و تعداد زایمان کمتر از ۲ بار ($P < 0.02$) با خطر ابتلا به مایکوپلازما هومینیس مشاهده شد (جدول ۴). هیچ گونه ارتباط آماری معنی‌داری بین سایر متغیرهای مورد مطالعه با خطر ابتلا به مایکوپلازما هومینیس مشاهده نگردید.

روش PCR ۷۶ درصد بود. مطالعات زیادی در ارتباط با بررسی شیوع مایکوپلاسماهای تناسلی در نقاط مختلف دنیا انجام گرفته است. به طوری که شیوع مایکوپلاسمای هومینیس با روش کشت از ۵ درصد در مکزیک (۱۶) تا ۲۶ درصد در ترکیه (۱۷) متغیر بوده است. در مطالعه‌ای در کانادا شیوع مایکوپلاسمای هومینیس ۱۰/۹ درصد گزارش شد (۱۸). با روش PCR شیوع مایکوپلاسمای هومینیس 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 مایکوپلاسمای هومینیس بودند (۲۰). مطالعه وطنی و همکاران روی ۱۷۴ بیمار با آلودگی مایکوپلاسمای 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 مایکوپلاسمای 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 مایکوپلاسمای 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. به نظر می‌رسد فعالیت جنسی زیاد بیش از سن در کلونیزاسیون این باکتری نقش مهمی داشته باشد (۲۳).

در مطالعه بخشنده نصرت و همکاران توزیع فراوانی مایکوپلاسماهای تناسلی در عفونت‌های اوروزنیتال ۲۳۵ زن در شهر گرگان بررسی شد. میانگین سنی افراد آلوده به مایکوپلاسمای هومینیس معنی‌داری بیش از افراد غیر آلوده 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 مایکوپلاسمای 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 معنی‌دار بود.

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

مایکوپلاسماهای ژنیتال به‌ویژه مایکوپلاسمای 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 مایکوپلاسمای هومینیس هستند. حضور مایکوپلاسمای 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 (۱۲ و ۱۳). 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. مایکوپلاسمای هومینیس 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 صد درصد 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 مایکوپلاسمای 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 مایکوپلاسمای 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 مایکوپلاسمای هومینیس توسط روش کشت ۳۵/۳ درصد و با

تشکر و قدردانی

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

در نظر گرفته شود. لذا لازم است که آزمون‌های مربوط به شناسایی این ارگانیزم 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 مایکوپلازما هومینیس در زنان با عفونت واژینال است.

References

- Serin MS, Evruke C, Kibar F, Koksall 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.
- Taylor-Robinson D, Furr PM. Update on sexually transmitted mycoplasmas. *Lancet*. 1998;351 (Suppl 3):12-5.
- 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.
- Karimzadeh Meybodi MA, Taheripannah R. [Infections in Recurrent Miscarriage]. *J Reprod Infertil*. 2000; 1(2):24-34. [Article in Persian]
- 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]
- 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]
- Karmastchi A. [Prevalence of genital mycoplasmas in women with abortion in Tehran]. *Hormozgan Med J*. 2002;3(6):13-16. [Article in Persian]
- 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.
- 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.
- 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.
- Rosemond A, Lanotte P, Watt S, Sauguet 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]
- Co kun E, Özkan S, Vural B. Impact of genital infections on fertility. *J Turk Ger Gynecol Assoc*. 2005; 6(3):197-203.
- Gilbert GL. Treatment of chlamydial and mycoplasmal genital infections. *Med J Aust*. 1987 Feb;146(4):205-8.
- 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.
- 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.
- Robertson JA. Potential virulence factors of *Ureaplasma urealyticum*. *Pediatr Infect Dis*. 1986 Nov-Dec;5(6 Suppl):S322-4.
- Watson RA. Gonorrhea and acute epididymitis. *Mil Med*. 1979 Dec; 144(12):785-7.
- Weidner W, Brunner H, Krause W. Quantitative culture of *ureaplasma urealyticum* in patients with chronic prostatitis or prostaticitis. *J Urol*. 1980 Nov;124(5):622-5.
- Stewart FS. *Bacteriology Virology and Immunity for Students of Medicine*. 10th. Philadelphia: WB Saunders Co. 1978; pp: 282-4.
- 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]
- Vatani Sh, Ghazisaidi K, Mohamadi M, Najji AR, Fateminasab F, Zeraati H, et al. [The survey of continuation with genital mycoplasma in women with bacterial vaginosis by PCR method]. *J Gorgan Uni Med Sci*. 2006; 8(1):45-50. [Article in Persian]
- 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]
- 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]
- 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]
- 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.
- 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.

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

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