



شناسایی مولکولی مایکوپلازما هومینیس در ترشحات دستگاه تناسلی مردان نابارور مراجعه کننده به مرکز ناباروری کرمان

سمیرا وثوقی^{۱*}، بابک خیرخواه^۲، تورج رضا میرشکاری^۳، اشرف کریمی نیک^۴، سودابه حمیدادوی محمدپور^۱، نعیمه محسنی مقدم^۵

^۱ کارشناس ارشد، گروه پژوهشی میکروب شناسی پاسارگاد، تهران، ^۲ استادیار، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد بافت، گروه میکروب شناسی، ^۳ استادیار، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، گروه پاتولوژی، ^۴ مربی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرمان، دانشکده علوم پایه، گروه میکروب شناسی، ^۵ کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات سیرجان، گروه میکروب شناسی

چکیده

سابقه و هدف: مایکوپلازماهای تناسلی اغلب با اثرات مخرب بر پارامترهای کیفی اسپرم می توانند موجب عقیمی و ناباروری در مردان گردند. این مطالعه با هدف جداسازی مایکوپلازما هومینیس از ترشحات دستگاه تناسلی مردان نابارور مراجعه کننده به مرکز ناباروری کرمان با روش واکنش زنجیره ای پلیمرز (PCR) انجام شده است.

مواد و روش‌ها: این پژوهش به صورت مقطعی-توصیفی از فروردین ماه ۱۳۹۱ تا شهریور ماه ۱۳۹۱ بر روی ۵۸ نمونه مایع منی جمع آوری شده از مردان نابارور مراجعه کننده به مرکز ناباروری کرمان انجام گردید. ناباروری تمامی نمونه ها با انجام اسپرموگرام مورد تأیید قرار گرفت. پس از استخراج DNA، با استفاده از روش PCR و به کمک پرایمرهای اختصاصی جنس مایکوپلازما و گونه مایکوپلازما هومینیس مورد ردیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: از مجموع نمونه های مورد بررسی، ۲۲ نمونه (۳۷/۹۳٪) آلوده به جنس مایکوپلازما و ۱۳ نمونه (۲۲/۴۱٪) آلوده به گونه مایکوپلازما هومینیس بودند. همچنین بیشترین آلودگی به مایکوپلازما در گروه سنی ۲۹ تا ۳۸ سال مشاهده گردید. **نتیجه گیری:** در این پژوهش برای اولین بار در کرمان مایکوپلازما از ترشحات دستگاه تناسلی مردان نابارور جداسازی گردید. نتایج به دست آمده در این مطالعه نشان داد که درصد بالایی از مردان نابارور و فاقد علائم بالینی، به این باکتری آلوده بوده اند.

واژگان کلیدی: مایکوپلازما هومینیس، مایع منی، واکنش زنجیره ای پلی مرز.

دریافت مقاله: مهر ماه ۹۱ پذیرش برای چاپ: بهمن ماه ۱۳۹۱

مقدمه

همچنین اگر زنی نتواند جنین را در رحم خود نگه دارد و آن را سقط نماید، نابارور محسوب می گردد. عوامل بسیار زیادی در ناباروری و نازایی دخالت دارند. نارسایی‌های فیزیکی، مشکلات هورمونی، عوامل ژنتیکی، محیطی و یا عفونی از مهم ترین این عوامل به شمار می آیند (۱). عفونت مجرای ادراری - تناسلی مردان، یکی از مهم ترین عوامل ناباروری می باشد (۲ و ۳). به طوری که ۸ تا ۳۵ درصد از موارد ناباروری مردان در سراسر جهان به این عفونت ها نسبت داده شده

امروزه عفونت دستگاه تناسلی یکی از علل مهم ناباروری در مردان به شمار می رود. ناباروری در مردان به معنی عدم توانایی باردار نمودن زوجه پس از یک سال آمیزش و در زنان به معنی عدم بارداری پس از این مدت زمان می باشد.

(* آدرس برای مکاتبه: تهران، تهرانپارس، بین فلکه سوم و چهارم، کوچه آقا بزرگی

(۲۱۶ غریبی)، پلاک ۲۷ واحد ۱

تلفن: ۰۹۱۲۸۴۴۵۶۱۰ پست الکترونیک: s_vosough@yahoo.com

شمار آید. در این امر استفاده از روش تشخیصی واکنش زنجیره ای پلیمرز (PCR) که حساسیت بالاتر و مطلوب تری نسبت به روش معمول کشت دارد، می تواند بسیار موثر واقع گردد (۱۲). هدف از این پژوهش جداسازی مایکوپلازما هومینیس از ترشحات دستگاه تناسلی مردان نابارور مراجعه کننده به مرکز ناباروری کرمان با روش واکنش زنجیره ای پلیمرز (PCR) بود.

مواد و روش‌ها

الف) نمونه گیری: در این مطالعه از فروردین ماه ۱۳۹۱ تا شهریور ماه ۱۳۹۱ به صورت مقطعی-توصیفی در مجموع ۵۸ نمونه مایع منی (Semen) از مردان نابارور مراجعه کننده به مرکز ناباروری کرمان جمع آوری و به ظروف استریل منتقل گردید. ناباروری تمامی نمونه ها با انجام اسپرموگرام، به عنوان آزمایش معمول در مرکز ناباروری مورد تأیید قرار گرفت.

ب) رسوب گیری: برای این منظور ابتدا تمامی نمونه ها به مدت ۲۴ ساعت در گرمخانه واجد ۵ درصد CO₂ و رطوبت قرار داده شدند. سپس ۱۰۰۰ میکرولیتر از نمونه به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۱۳۰۰۰rpm سانتریفیوژ گردید. پس از حذف مایع رویی رسوب باقی مانده نگهداری شد.

ج) استخراج DNA: برای این منظور از کیت استخراج DNA از بافت و سلول شرکت سیناژن ایران استفاده گردید.

د) انجام واکنش زنجیره ای پلیمرز: به منظور ردیابی جنس مایکوپلازما از پرایمرهای GSO و MGSO و برای شناسایی گونه مایکوپلازما هومینیس از پرایمرهای RNAH₁ و RNAH₂ استفاده گردید (۱۳) (جدول ۱).

در این مطالعه از DNA نمونه استاندارد باکتری مایکوپلازما هومینیس (PG₂₁)، به عنوان کنترل مثبت و از آب مقطر دو بار تقطیر استریل، به عنوان کنترل منفی استفاده گردید. واکنش PCR با حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل ۵/۷ میکرولیتر آب مقطر (عاری از نوکلئاز)، ۱۲/۵ میکرولیتر PCR Master mix (2X) حاوی آنزیم Taq DNA Polymerase (۰/۵ واحد)، MgCl₂

است (۴). مطالعات مختلف در کشورهای توسعه یافته نشان داده است که عفونت های ناشی از مایکوپلازماها (*Mycoplasma*) و اوره پلازماهای (*Ureaplasma*) تناسلی می توانند به ناباروری و نازایی منتهی گردند (۲). عفونت های ناشی از این باکتری ها اغلب بدون علائم بالینی هستند و می توانند تأثیرات منفی بر سلامت تناسلی مردان داشته باشند (۵). به عنوان نمونه این باکتری ها می توانند موجب تأثیرات منفی بر حجم، pH، تحرک، مورفولوژی، تعداد و قابلیت حیاتی اسپرم ها گردند (۲). از جمله این عفونت ها آلودگی با باکتری مایکوپلازما هومینیس (*Mycoplasma hominis*) می باشد. این باکتری علاوه بر نقش مهمی که در بروز بیماری های التهابی لگن، واژینوز باکتریایی و غیره (۲ و ۷) ایفا می کند می تواند با اتصال به سر، دم و بخش میانی اسپرم ها (به منظور کسب استروئیدهای مورد نیاز خود)، موجب بی حرکت شدن اسپرم و حتی نفوذ به درون آن ها نیز گردد (۸). همچنین شواهد نشان می دهد که عفونت بدون علائم بالینی ناشی از مایکوپلازما و اوره پلازما می تواند موجب سوء عملکرد غدد ضمیمه جنسی گردد. حضور این باکتری در مایع منی و یا مجرای تناسلی زنان می تواند در فرآیند لقاح خارج رحمی سبب افت و کاهش میزان حاملگی شود (۳ و ۹). در کشورهای در حال توسعه نقش این باکتری ها در ایجاد ناباروری هنوز به طور کامل مشخص نشده است (۱۰). مطالعات در سایر کشورها نشان می دهد که در صورت عدم تشخیص، پیشگیری و یا درمان مناسب عفونت های مایکوپلاسمایی، این باکتری ها می توانند به طور مستمر باقی مانده و منجر به عواقب خطرناکی مانند بیماری های التهابی لگن و ناباروری گردند (۱۱). در ایران مطالعات اندکی در زمینه تشخیص این باکتری ها در نمونه های مایع منی صورت گرفته است. در حالی که شناسایی این باکتری ها در مردان نابارور فاقد علائم بالینی از اهمیت بالایی برخوردار است و می تواند به عنوان بخش مهمی از برنامه کنترل بیماری های منتقله از راه تماس جنسی (STD) به

یافته ها

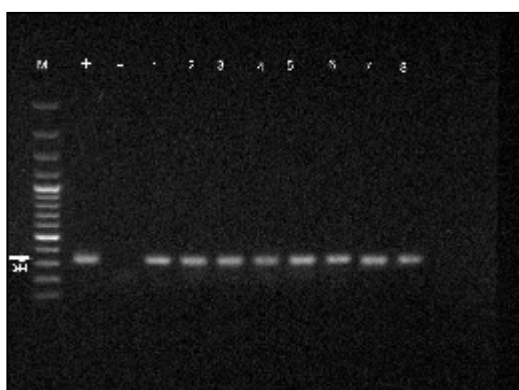
نتایج به دست آمده از الکتروفورز محصولات PCR، حضور باندهای ۱۶۳ و ۳۴۴ جفت بازی در نمونه های مورد بررسی را نشان داد. این باندهای اختصاصی به ترتیب نشان دهنده جنس مایکوپلازما و گونه مایکوپلازما هومینیس می باشند (شکل های ۱ و ۲). در این پژوهش از ۵۸ نمونه منی مردان نابارور مراجعه کننده به مرکز ناباروری کرمان، ۲۲ نمونه (۳۷/۹۳٪) آلوده به جنس مایکوپلازما و ۱۳ نمونه (۲۲/۴۱٪) آلوده به گونه مایکوپلازما هومینیس بودند. به عبارت دیگر حدود ۵۹ درصد از افرادی که آلودگی مایکوپلازمایی مایع منی آنها مورد تأیید قرار گرفته بود به گونه مایکوپلازما هومینیس آلوده بودند.

افراد مورد بررسی در این مطالعه در گروه سنی ۱۹ تا ۴۸ سال

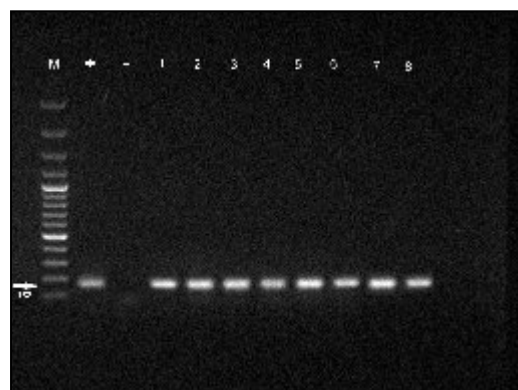
(۴ میلی مول بر لیتر) و dNTPs (۴ میلی مول بر لیتر)، ۱ میکرولیتر از هر پرایمر و ۳ میکرولیتر DNA الگو انجام گردید. در ادامه واکنش PCR با شرایط دمایی ۶ دقیقه واسرشت شدن ابتدایی در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد و در ادامه ۳۳ چرخه شامل واسرشت شدن در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۱ دقیقه، اتصال در دمای ۵۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱ دقیقه، طویل شدن در دمای ۷۰ درجه سانتی گراد به مدت ۱ دقیقه و در نهایت طویل شدن نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۷ دقیقه انجام شد (۱۴). محصولات PCR به ژل آگاروز ۱ درصد واجد اتیدیوم برمایند منتقل و الکتروفورز گردیدند. باندهای ایجاد شده پس از انتقال به دستگاه پرتوتاب ماورای بنفش (UV Transiluminator) مشاهده و تصاویر حاصل ثبت گردیدند.

جدول ۱: توالی های نوکلئوتیدی و آغازگرهای مورد استفاده در تشخیص مایکوپلازما هومینیس به روش PCR

اندازه (جفت باز)	توالی 5'→3'	ژن هدف	پرایمر
۱۶۳	F: 5- GGGAGCAAACAGGATTAGATACCT-3	16S rRNA	GSO
	R: 5- TGCACCATCTGTCACTCTGTAAACCTC-3		MGSO
۳۴۴	F: 5- CAATGGCTAATGCCGGATACGC-3	16S rRNA	RNA H1
	R: 5- GGTACCGTCAGTCTGCAAT-3		RNA H2



شکل ۲: تصویر الکتروفورز محصول PCR با استفاده از پرایمر اختصاصی گونه مایکوپلازما هومینیس. (M) مارکر ۱۰۰ جفت بازی. (+) کنترل مثبت. (-) کنترل منفی. ستون های ۱ تا ۸) نمونه های حاوی گونه مایکوپلازما هومینیس (۳۴۴ جفت باز).



شکل ۱: تصویر الکتروفورز محصول PCR با استفاده از پرایمر اختصاصی جنس مایکوپلازما. (M) مارکر ۱۰۰ جفت بازی. (+) کنترل مثبت. (-) کنترل منفی. ستون های ۱ تا ۸) نمونه های حاوی جنس مایکوپلازما (۱۶۳ جفت باز).

قرار داشتند. نتایج به دست آمده در این مطالعه نشان داد که بیشترین آلودگی مایکوپلازما (جنس و گونه) مربوط به گروه سنی ۲۹ تا ۳۸ سال بوده است (جدول ۲).

جدول ۲: فراوانی نمونه های مورد بررسی بر اساس گروه سنی.

گروه سنی (سال)	جنس مایکوپلازما	گونه مایکوپلازما هومینیس
۱۹ - ۲۸	۸ (۳۱/۷۹٪)	۵ (۸/۶۲٪)
۲۹ - ۳۸	۱۱ (۱۸/۹۷٪)	۶ (۱۰/۳۴٪)
۳۹ - ۴۸	۳ (۵/۱۷٪)	۲ (۳/۴۵٪)
جمع	۲۲ (۳۷/۹۳٪)	۱۳ (۲۲/۴۱٪)

بحث

عفونت های مایع منی، به خصوص عفونت های مایکوپلاسمایی، یکی از عوامل مهم ناباروری در مردان به شمار می آیند. با این وجود تاکنون این پارامتر به جز در شهرهای اهواز، گرگان و تهران (۱۷-۱۵) در هیچ یک از مراکز ناباروری ایران، به عنوان عامل مؤثر در ناباروری مردان مورد بررسی قرار نگرفته است. در این پژوهش برای اولین بار در استان کرمان آلودگی مایکوپلاسمایی در مایع منی مردان نابارور مورد ارزیابی قرار گرفت. همچنین به طور اختصاصی مایکوپلازما هومینیس به عنوان یکی از عوامل عفونی در ترشحات تناسلی جداسازی گردید. موفقیت دیگر این پژوهش، آماده سازی آزمایشگاه مرکز ناباروری دانشگاه علوم پزشکی کرمان به منظور جداسازی انواع مایکوپلازماهای تناسلی به ویژه مایکوپلازما هومینیس بود.

باکتری مایکوپلازما به دلیل فقدان دیواره سلولی، به شرایط محیطی مانند pH، دما و ترکیبات موجود در محیط کشت بسیار حساس می باشد. به همین دلیل هنگام نمونه برداری و یا انتقال به آزمایشگاه ممکن است باکتری ضعیف شده، از بین برود و یا در محیط های کشت قابل بازیابی نباشد (۱۸). بنابراین روش معمول کشت باکتریایی در مقایسه با روش های مولکولی مانند PCR روشی پر هزینه، زمان بر، مشکل و دارای حساسیت پایین می باشد. این در حالی است که در روش PCR برای انجام آزمایش به باکتری زنده نیاز نمی باشد.

بنابراین باکتری به میزان کمتری تحت تأثیر مراحل نمونه برداری و انتقال قرار می گیرد. از طرف دیگر کشت مایکوپلازماها در شرایط مطلوب بیش از چند روز به طول خواهد انجامید و به محیط های بسیار اختصاصی همراه با مکمل های غذایی نیاز می باشد. اما در روش PCR می توان در کمتر از چند ساعت چندین نمونه را به طور هم زمان مورد ارزیابی قرار داد (۱۹ و ۲۰). با توجه به مطالب یاد شده، در مطالعه حاضر به منظور تشخیص عفونت های مایکوپلاسمایی در ترشحات، از روش PCR استفاده گردید. این روش به دلیل دقیق، حساس و سریع بودن می تواند در ادامه تست های معمول اسپرموگرام افراد نابارور، به منظور شناسایی مایکوپلازماهای تناسلی مورد استفاده قرار گیرد. در مطالعه ای که نجار پیرایه (Najar Pirayeh) و همکاران در سال ۲۰۰۷ با هدف مقایسه دو روش آزمایشگاهی PCR و کشت بر روی نمونه های مایع منی مردان نابارور انجام دادند، تأیید گردید که حساسیت روش PCR نسبت به روش کشت بسیار بیشتر می باشد. نتایج آن ها نشان داد که حساسیت روش های PCR و کشت به ترتیب ۹۱/۸ درصد و ۵۳ درصد بوده است (۱۹). سرین (Serin) و همکاران نیز در سال ۲۰۰۱ به نتیجه ای مشابه در ارتباط با روش های شناسایی مایکوپلازماهای تناسلی دست یافتند (۲۱).

مایکوپلازماهایی مانند مایکوپلازما هومینیس با ایجاد عفونت های بدون علامت و به دنبال آن عدم مراجعه بیمار به پزشک، موجب پیشرفت بیماری های مجاری ادراری-تناسلی، آسیب عملکرد اسپرم و تخریب آن، تنگی مجاری سمینال می و در نهایت ایجاد ناباروری می گردد (۲۲). در پژوهش جاری از ۵۸ نمونه منی مردان نابارور مراجعه کننده به مرکز ناباروری کرمان، ۲۲ نمونه (۳۷/۹۳٪) آلوده به جنس مایکوپلازما و ۱۳ نمونه (۲۲/۴۱٪) آلوده به گونه مایکوپلازما هومینیس بودند. نکته قابل توجه این است که تمامی افراد مورد بررسی در این مطالعه به جز ناباروری، فاقد هر نوع علائم بالینی دیگری بودند. این امر اهمیت مایکوپلازماها را در ایجاد عفونت های مخفی به خوبی نشان می دهد. قاضی سعیدی (Ghazi Saedi) و

سنی ۲۹ تا ۳۸ سال بوده است. در مطالعه احمدی (Ahmadi) و همکاران بیشترین میزان آلودگی به مایکوپلازما در افراد ۳۴ تا ۴۳ سال مشاهده گردید (۲). این یافته با نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر هم خوانی دارد و نشان دهنده جداسازی بیشتر باکتری از افرادی است که در سنین فعال از نظر جنسی قرار دارند.

نتیجه گیری

با توجه به یافته های این مطالعه، درصد نسبتاً بالایی از مردان نابارور در کرمان دارای عفونت مایکوپلازمایی بوده اند. از آنجایی که حضور مایکوپلازماها در مجاری ادراری-تناسلی افراد مورد بررسی، بدون علامت بالینی بوده است، لذا غربالگری میکروبی مردان و زوج های نابارور به ویژه در سنین جوانی، ضروری به نظر می رسد. آگاهی دادن به افراد جامعه درباره خطرات عفونت های ادراری-تناسلی و راه های حفاظت از سلامت جنسی می تواند بخش مهمی از برنامه کنترل بیماری های منتقله از راه تماس جنسی به شمار آید.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از تمامی کارکنان مرکز ناباروری کرمان به دلیل همکاری صمیمانه در اجرای این پژوهش کمال امتنان را دارند.

همکاران در سال ۲۰۰۸ موفق به جداسازی مایکوپلازما از نمونه قطرات اولیه ادرار (۱۲٪) و نمونه ترشحات پروستات (۶/۱۴٪) در مردان بارور مبتلا به عفونت ادراری شدند (۲۳). این یافته با نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر هم خوانی ندارد. شاید بتوان علت تفاوت فراوانی مایکوپلازما در این دو پژوهش را به تفاوت در نوع نمونه ها و افراد مورد بررسی نسبت داد. امیر مظفری (Amir Mozaffari) و همکاران در سال ۲۰۰۸ با هدف جداسازی مایکوپلازما اقدام به کشت مایع منی مردان نابارور نمودند. این محققان در مطالعه خود، میزان آلودگی نمونه های مورد بررسی به مایکوپلازما هومینیس را ۲/۳ درصد گزارش کردند (۲۴). این میزان شیوع بسیار کمتر از نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر می باشد. علت این اختلاف را می توان تفاوت در حساسیت و دقت روش های به کار رفته در دو پژوهش (PCR در مقایسه با کشت) دانست. احمدی (Ahmadi) و همکاران نیز در سال ۲۰۱۰، میزان آلودگی مایع منی مردان نابارور به مایکوپلازما هومینیس را با روش PCR برابر با ۵/۱۵ درصد گزارش نمودند (۲). دومینگوس (Domingus) و همکاران در سال ۲۰۰۳ در کانادا شیوع مایکوپلازماهای تناسلی را با روش کشت بیش از ۵۰٪ اعلام نمودند (۲۵). همچنین در مطالعات انجام شده در سایر کشورها، میزان جداسازی مایکوپلازما هومینیس، بین ۵ تا ۱۳ درصد گزارش شده است (۲۶). شاید بتوان دلیل افزایش فراوانی مایکوپلازماهای تناسلی در این بررسی ها را به عوامل فرهنگی و اجتماعی رایج در سایر کشورها نسبت داد. بخشنده نصرت (Bakhshande Nosrat) و همکاران در سال ۲۰۰۹ در گرگان فراوانی مایکوپلازماهای تناسلی را در زنان مبتلا به عفونت تناسلی ۸/۱۲ درصد و فراوانی مایکوپلازما هومینیس را ۷/۷ درصد گزارش نمودند (۱۶). میزان شیوع پایین این باکتری در زنان مورد بررسی در گرگان، کمتر از حد انتظار بود.

در پژوهش جاری بین گروه سنی افراد مورد مطالعه و نتایج حاصل از PCR، ارتباط معناداری مشاهده نشد. با این وجود بیشترین آلودگی مایکوپلازما (جنس و گونه) مربوط به گروه

References

1. Zhang ZH, Zhang HG, Dong Y, Han RR, Dai RL, Liu RZ. *Ureaplasma urealyticum* in male infertility in Jilin province, Northeast china, and its relationship with sperm morphology. *J Int Med Res.* 2011; 39(1): 33-40.
2. Ahmadi M, Amir Mozaffari N, Kazemi B, Sedighi Gilani M, Masjedian Jazi F. Detection of *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* in semen of infertile men referred to Royan Institute by PCR method in 2010. *Medical Journal of Cell.* 2010; 12(3): 371-380. [In Persian]
3. AL-Daghistani HI, Abdel-Dayem M. Clinical significance of asymptomatic urogenital *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* in relation to seminal fluid parameters among infertile Jordanian males. *Middle East Fertility Society Journal.* 2010; 15(1): 29-34.
4. Askienazy-Elbhar M. Male genital tract infection: the point of view of the bacteriologist. *Gynecol Obstet Fertil.* 2005; 33(9): 691-697.
5. Winn Jr. W, Allen S, Janda W, Koneman E, Procop G, Schreckenrger P, Woods G. *Mycoplasma* and *Ureaplasma*. In: Konemans color atlas and textbook of diagnostic microbiology. 6 ed, USA Lippincott Williams and Wilkins. Wolters Kluwer Company, 2006; 1028-1033.
6. Lu MG, Shi JL, Xu C. Establishment and application of the approach to detecting two biovars of *Ureaplasma urealyticum* organisms in human semen. *Zhonghua Nan Ke Xue.* 2005, 11(3): 175- 184.
7. Larsen B, Hwang J. *Mycoplasma*, *Ureaplasma*, and adverse pregnancy outcomes: a fresh look. *Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology.* 2010; 2010: 1-7.
8. Diaz-Garcia FJ, Herrera-Mendoza AP, Giono-Cerezo S, Guerra-Infante FM. *Mycoplasma hominis* attaches to and locates intracellularly in human spermatozoa. *Home Report.* 2006; 21 (6): 1591-1598.
9. Bayraktar MR, Ozerol IH, Gucluer N, Celik O. Prevalence and antibiotic susceptibility of *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* in pregnant women. *Int J Infect Dis.* 2010; 14(2): 90-95.
10. Gdoura R, Kchaou W, Ammar Keskes L, Chakronn N, Sellemi A, Znazen A, Rebai T and Hammami A. Assessment of *chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Ureaplasma parvum*, *Mycoplasma hominis* and *Mycoplasma genitalium* in semen and first void urine specimens of asymptomatic male partners of Infertile couples. *J Andrology.* 2008; 29(2): 198-206.
11. Pacey AA, Eley A. *Chlamydia trachomatis* and male fertility. *Hum Fertil (Camb).* 2004; 7 (4): 271-276.
12. Sakhaei D, Pourbakhsh SA, Banani M, Lotfi M, Akhlaghi F, Asli E. Using PCR and culture method for *Mycoplasma* testing in poliomyelitis vaccine. *Arch Razi Ins.* 2009, 64(2): 109-114.

13. Najar Pirayeh Sh, Al Yasin A. Comparison of PCR with culture for detection of *Mycoplasma hominis* in infertile women. Kowsar Medical Journal. 2005; 10(3): 183-190. [In Persian]
14. Kheirkhah B, Pournakhsh SA, Nadalian MG, Banani M, Ashtari A. Detection on *Mycoplasma agalactiae* by culture and polymerase chain reaction (PCR) methods from Iranian goats. Afr J Microbiol Res. 2011; 5(13): 1668-1672.
15. Amir Mozaffari N, Sedighi Gilani M, Kazemi B, Masjedian Jazi F. Presence of *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* in semen of infertile men referred to Royan institute in 2008. Journal of Iran Medical Sciences. 2009; 17(71): 14-25. [In Persian]
16. Bakhshande Nosrat S, Ghazi Saeedi K, Livani S, Dadgar T, Bazori M, Bagheri H, Behnam pour N, Ghaemi A. Frequency of genital *Mycoplasmas* in vaginal infections in Gorgan city. Journal of Obstetrics, Gynecology and Infertility Iran. 2009, 20-28. [In Persian]
17. Mousavian S, Motamedi H, Maleki S, Shahbazian N. Frequency *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* in women with urinary genital tract infections techniques using multiplex PCR and culture methods. Medical Journal of Tabriz Medical Sciences University. 2011; 33(5): 91-97. [In Persian]
18. Najar Pirayeh Sh, Samimi R. Detection of *Mycoplasma hominis* with PCR in endocervical samples from infertile women. Journal of Daneshvar Medical Science Research. 2006; 14 (66): 63-68. [In Persian]
19. Najar Pirayeh Sh, Zeyghami H, Farshchian M, Otoufi J. Comparison of PCR with culture for detection of *Ureaplasma urealyticum* in genital samples of infertile men. Hakim Research Journal. 2007; 10(3): 48-53. [In Persian]
20. Yoon BH, Romero R, Kim M, Kim EC, Kim T, Park JS, Jun JK. Clinical implications of detection of *Ureaplasma urealyticum* in the amniotic cavity with the Polymerase chain reaction. Am J Obstet Gynecol. 2000; 183(5):1130-1137.
21. 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. Eastern J Med. 2001; 6(2): 48-52.
22. Andrade-Rocha FT. *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis* in men attending for routine semen analysis. Prevalence, incidence by age and clinical setting, influence on sperm characteristics, relationship with the leukocyte count and clinical value. Urol Int. 2003; 71(4): 377-381.
23. Ghazi Saeedi K, Fatemi Nasab F, Vatani Sh, Azimi Y, Bakhshande Nosrat S, Mohamadi M. Compare two methods prostatic massage and urine initial drop sample in isolates of *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* in urinary tract. Journal of Laboratory Medicine. 2008; 2(1): 15-18. [In Persian]

24. Amir Mozafari N, Jadi F, Masjedian F, Haghghi L. Prevalence of *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* in the genital infections. Journal of Iran Medical Sciences. 2008; 15 (60-61): 19-24. [In Persian]
25. Domingus D, Tavira LT, Duarte A, Sanca A, Prieto E, Exposto F. Genital *Mycoplasma* in women attending a family planning clinic in Guine-Bissau and their susceptibility to antimicrobial agents. Acta Trop. 2003; 86(1): 19-24.
26. Rodriguez R, Hernandez R, Fuster F, Torres A, Prieto P, Alberto J. Genital infection and infertility. Enferm Infecc Microbiol Clin. 1994; 19(6): 261-266.



Molecular detection of *Mycoplasma hominis* from genital secretions of infertile men referred to the Kerman infertility center

Samira Vosooghi¹, Babak Kheirkhah², Touraj-Reza Mir-shekari³, Ashraf Karimi Nik⁴, Soudabeh Hamidavi Mohammadpour¹, Naeimeh Mohseni Moghadam⁵

¹ M.Sc., Pasargad Microbiology Research Group, Tehran, Iran

² Assistant Professor, Department of Microbiology, Baft Branch, Islamic Azad University, Baft, Iran

³ Assistant Professor, Department of Pathology, Kerman University of Medical Science, Kerman, Iran

⁴ M.Sc., Department of Microbiology, Kerman Branch, Islamic Azad University, Kerman, Iran

⁵ M.Sc., Department of Microbiology, Sirjan Science and Research Branch, Islamic Azad University, Sirjan, Iran

Abstract

Background and Objectives: Mycoplasmal genital infections are often associated with devastating effects on quality of sperms, leading to male infertility. The aim of this study was to isolate *Mycoplasma hominis* from genital secretions of infertile men referred to the Kerman Infertility Center based on PCR method.

Material and Methods: In this cross-sectional study, 58 semen samples were collected from the infertile men who were referred to the Infertility Center of Kerman from May 2012 to September 2012. Infertility condition was confirmed in all samples by performing a semen analysis. After genomic DNA extraction, DNAs were examined by PCR and the primers specific for both the genus *Mycoplasma* and species *Mycoplasma hominis*.

Results: Overall, 22 samples (37.93%) were detected as Mycoplasma infection, among them 13 samples (22.41%) belonged to *Mycoplasma hominis*. Also, most of the Mycoplasma infection were detected in the age group of 29 to 38 years.

Conclusion: For the first time in Kerman, we could isolate *Mycoplasma hominis* from genital secretions of infertile men. The study showed that a relatively high percentage of asymptomatic infertile men were infected with this bacterium.

Keywords: *Mycoplasma hominis*, Infertility, Polymerase Chain Reaction.

Correspondance to: Samira Vosooghi

Tel: +989128445610

E-mail: s_vosoogh@yahoo.com

Journal of Microbial World 2013, 6(1): 14-22.