

مقایسه PCR با کشت برای تشخیص مایکوپلازما هومینیس در زنان نابارور

شهین نجاریپرایه* Ph.D.، اشرف آل یاسین** M.D.

چکیده

هدف: مقایسه دو روش کشت و PCR برای بررسی فراوانی مایکوپلازما هومینیس در نمونه‌های اندوسرویکس زنان نابارور.

روش بررسی: سوآب اندوسرویکس (دوتایی) از ۳۱۲ زن نابارور تهیه گردید. DNA با روش Cadieux استخراج گردید و با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ژن rRNA ۱۶S مایکوپلازما هومینیس، PCR انجام شد. کشت باکتری با روش براث-آگار در محیط‌های H broth و H agar صورت گرفت.

یافته‌ها: مایکوپلازما هومینیس در ۱۷/۳٪ نمونه‌ها با مجموع دو روش کشت و PCR تشخیص داده شد. ۵/۱٪ نمونه‌ها با هر دو روش مثبت شدند. ۶/۴٪ فقط با کشت مثبت شد و ۱۶٪ فقط با PCR مثبت گردیدند. حساسیت PCR، ۹۲/۵٪ و کشت ۳۷٪ می‌باشد. ارتباط معنی‌دار آماری بین وجود مایکوپلازما هومینیس و بیماران دارای سرویسیت مشاهده گردید. ولی بین سن و سایر علائم بالینی همراهی آماری دیده نشد.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان می‌دهد PCR، روش حساس، اختصاصی، آسان و سریع برای تشخیص مایکوپلازما هومینیس در نمونه‌های تناسلی است.

واژه‌های کلیدی: مایکوپلازما هومینیس، ناباروری، PCR، مایکوپلازماها، بیماری‌های دستگاه تناسلی-اداری

مقدمه

محیط‌های آزمایشگاهی رشد یابند. بعضی از مایکوپلازماها بخشی از فلور طبیعی نواحی مخاطی هستند و تعدادی نیز در بیماری‌های دستگاه تنفسی و ادراری-تناسلی انسان نقش دارند. (۱)
مایکوپلازما هومینیس یکی از مهمترین مایکوپلازماهایی

مایکوپلازماها باکتری‌های بدون دیواره سلولی هستند و در میزبان‌های مختلفی چون انسان، حیوانات، گیاهان و حشرات پیدا می‌شوند. این باکتری‌ها ژنوم کوچکی دارند و از کوچکترین میکروارگانیسم‌هایی هستند که می‌توانند در

دریافت مقاله: ۱۳۸۳/۱۰/۳۰، پذیرش مقاله: ۱۳۸۴/۵/۱۲

* نویسنده مسئول: استادیار گروه میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران - ایران

** گروه زنان و مامایی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

آدرس پست الکترونیکی: najarp_S@modares.ac.ir

حساسیت زیاد، سادگی انجام PCR سبب شده است که در تشخیص مایکوپلازماهای سخت رشد بکار گرفته شود. ولی گزارشات اندکی برای تشخیص مایکوپلازما هومینیس با PCR در زنان نابارور وجود دارد. در این تحقیق به بررسی فراوانی مایکوپلازما هومینیس در زنان نابارور با استفاده از PCR و کشت پرداختیم.

روش بررسی

نمونه‌ها. نمونه‌ها از سیصد و دوازده بیمار نابارور ۱۷ تا ۴۵ ساله که برای درمان ناباروری به مراکز درمانی مراجعه کرده بودند، گرفته شد. از هر بیمار دو سواب اندوسرویکال تهیه گردید. یک سواب بلافاصله در محیط کشت ترانسپورت (پیتون، قلب گوساله، سدیم کلراید و عصاره مخمر) قرار گرفت و سواب دوم در ظرف حاوی PBS ($1.5 \text{ mM KH}_2\text{PO}_4$ ، 0.1 M NaCl ، 2.5 mM KCl و $10 \text{ mM Na}_2\text{HPO}_4$)، pH ۷.۴ برای انجام PCR قرار داده شد و به آزمایشگاه منتقل گردید. در آزمایشگاه نمونه‌های مربوط به PCR در ۲۰- درجه تا هنگام آزمایش نگهداری شد و روش کشت براث- آگار برای نمونه‌های کشت همان روز انجام گردید.

کشت برای مایکوپلازما هومینیس. نمونه‌ها پس از عبور از فیلترهای ۰.۴۵ میکرون به محیط H broth (قلب گوساله ۰/۶ در صد، پیتون ۰/۱٪، سدیم کلراید ۰/۵ در صد، سرم اسب ۰/۲۰٪، عصاره مخمر ۰/۱۰٪، سیستین ۰/۰۵ در صد، آرژنین ۱/۵ در صد و فنل رد ۰/۱۲۵ در صد با pH حدود ۷) تلقیح و در ۳۷ درجه گرما گذاری شد و تغییر pH روزانه کنترل گردید. به محض تغییر pH که با تغییر رنگ محیط از زرد به ارغوانی است و معمولاً ۴۸ تا ۷۲ ساعت بعد صورت می‌گرفت سواب کالچر در محیط براث انجام داده و همچنین در محیط کشت H agar (ترکیبات آن مشابه محیط کشت براث به اضافه ۱/۵ در صد آگار) برای مشاهده کلنی‌های نیمروبی شکل مایکوپلازما هومینیس کشت داده می‌شد و در ۳۷ درجه و در اتمسفر حاوی ۵ درصد CO_2 گرماگذاری می‌گردید. نمونه‌هایی

است که از دستگاه تنفسی و ادراری- تناسلی انسان جدا می‌گردد. این باکتری در دستگاه ادراری - تناسلی زنان ۲۱ تا ۵۴ در صد و در مردان ۴ تا ۱۳ درصد دیده می‌شود. (۳،۲) مایکوپلازما هومینیس در دستگاه تنفسی فوقانی ۱ تا ۳ در صد افراد سالم بیش از ۸ در صد افراد بزرگسال با بیماری مزمن تنفسی و بیش از ۳۰ در صد کودکان دارای التهاب مزمن لوزه وجود دارد. (۵،۴)

وجود مایکوپلازما هومینیس در دستگاه ادراری- تناسلی سبب شده است که در اغلب عفونت‌های این ناحیه دخالت داشته باشد. این باکتری در واژینوز باکتریایی، سالپنژیت، تب بعد از زایمان و سقط جنین، عفونت زخم سزارین، بیماری التهابی لگن، پیلونفریت و یورتريت نقش دارد. اکتساب مایکوپلازما هومینیس طی عبور از کانال زایمان ممکن است سبب مننژیت، عفونت خون، چشم و آبسه‌های مغزی در نوزادان گردد. (۵-۱۰) مایکوپلازما هومینیس همچنین، از باکتری‌هایی است که انتقال جنسی دارد و نقش آن در ناباروری انسان از سالها پیش مورد مطالعه قرار گرفته است ولی هنوز در حاله‌ای از ابهام قرار دارد. اما شواهدی دال بر نقش آن در ناباروری ناشی از عیوب لوله ای در زنان و اثرات منفی بر باروری مردان وجود دارد. (۱۱-۱۳)

راه اصلی تشخیص آزمایشگاهی مایکوپلازما هومینیس جداسازی از راه کشت است. کشت باکتری سخت، گران و با اتلاف وقت همراه است زیرا این باکتری سخت رشد و نیاز به محیط‌های اختصاصی و مکمل‌های غذایی مخصوص، مهارت و تجربه کافی دارد و ۲ تا ۵ روز طول می‌کشد تا نتیجه کشت معلوم گردد. تشخیص سرولوژیک نیز بدلیل هتروژنی و واکنش‌های متقاطع با مشکلاتی همراه است. روش‌های ملکولی نظیر PCR انقلابی را در تشخیص بیماری‌های عفونی، مخصوصاً بیماری‌هایی که عامل سببی آنها سخت رشد و یا غیر قابل کشت است، ایجاد کرده‌اند.

شدن)، ۶۲ درجه (اتصال)، ۷۲ درجه (طویل شدن) هر کدام بمدت ۱ دقیقه و مرحله extension نهایی در ۷۲ درجه در ۱۰ دقیقه انجام گرفت.

شناسایی محصول PCR. ژل آگاروز ۱٪ حاوی اتیدیوم بروماید تهیه شد و ۱۰ میکرولیتر از محصول PCR نمونه‌های بالینی، کنترل مثبت (سویه فرانس) و کنترل منفی (آب مقطر) درون چاهک‌های ژل قرار داده شد و الکتروفورز گردید **تجزیه و تحلیل آماری.** پس از گردآوری داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS و Excel و با آزمون آماری کای-دو (χ^2) تحلیل آماری صورت گرفت.

یافته‌ها

نتایج PCR. برای هر نمونه دو آزمایش PCR انجام گرفت PCR اول با پرایمرهای اختصاصی GSO و GMSO که قطعات ژن rRNA ۱۶S را تکثیر می‌کنند و با همه گونه‌های جنس مایکوپلازما و نیز جنس‌های اوره پلاسما، اسپروپلاسما و آکوله پلاسما واکنش دارد. (۱۵) از ۳۱۲ بیمار مورد بررسی، ۱۲۰ (۳۸/۴٪) نفر دارای DNA برای مایکوپلازما بودند. از این ۱۲۰ نمونه، ۵۰ نمونه برای مایکوپلازما هومینیس مثبت شد که ۴۱/۶٪ نمونه‌های مایکوپلازما مثبت و ۱۶/۰۲٪ کل نمونه‌ها را تشکیل می‌داد (جدول ۲). شکل ۱ الکتروفورز ژل آگاروز برای محصولات تکثیر شده با PCR را نشان می‌دهد. قطعه ژن تکثیر شده برای پرایمرهای اختصاصی جنس باند ۲۷۰bp و قطعه تکثیر شده با پرایمرهای مایکوپلازما هومینیس باند ۳۳۴bp دارند.

جداسازی مایکوپلازما هومینیس از نمونه‌های بالینی و مقایسه آن با نتایج PCR. مایکوپلازما هومینیس از (۴۱/۶٪) ۲۰ نمونه از کل ۳۱۲ نمونه سواب اندوسرویکس جدا گردید. در حالی که با روش PCR در ۱۶/۰۲٪ (۵۰ تا از ۳۱۲ نمونه) بیماران تشخیص داده شد. در جدول ۲ نتایج حاصل از کشت و PCR مقایسه شده است. مایکوپلازما هومینیس در ۱۶ نمونه با هر دو روش شناسایی شد. از ۲۰ نمونه مثبت

که در عرض یک هفته تغییر pH نداده بودند، منفی گزارش می‌شدند.

استخراج DNA از نمونه‌ها. DNA از سویه فرانس مایکوپلازما هومینیس ۲۱ PG (اهدایی از انستیتو Statns Serum دانمارک) و نمونه‌های بالینی با روش Cadieux و همکاران استخراج گردید. (۱۴) بطور خلاصه یک میلی‌لیتر از نمونه در $g \times 12000$ بمدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید و سپس رسوب آن با PBS شسته شد و در ۵۰ میکرولیتر آب مقطر دیونیزه حل گردید و پس از قرار دادن در بن ماری ۹۶ درجه بمدت ۱۰ دقیقه، برای انجام PCR مورد استفاده قرار گرفت.

انجام PCR. ابتدا برای تشخیص مایکوپلازماها از پرایمرهای اختصاصی جنس استفاده گردید. سپس از پرایمرهای اختصاصی گونه برای شناسایی مایکوپلازما هومینیس استفاده شد. قطعات ژنی rRNA ۱۶S اختصاصی مایکوپلازماها با استفاده از پرایمرهای منتشر شده اختصاصی جنس GSO و MGSO تکثیر گردید. (۱۵) PCR با ۵۰ میکرولیتر مخلوط حاوی ۱۰ میکرو لیتر بافر PCR $\times 10$ ، ۲/۵ میلی مول $MgCl_2$ ، ۲۰۰ میکرو مول dNTP، ۱/۲۵ واحد آنزیم تگ پلیمرز، ۲۰ پیکو مول از هر کدام از پرایمرها و ۷ میکرولیتر از نمونه DNA انجام گرفت. این مخلوط در دستگاه ترمال سایکلر (اپندروف) قرار گرفت و با برنامه دناتوره شدن اولیه در ۹۴ درجه بمدت ۳ دقیقه و سپس ۳۰ سیکل با برنامه دناتوره شدن در ۹۴ درجه بمدت ۱ دقیقه، اتصال پرایمرها به DNA هدف در ۶۴ درجه بمدت ۱ دقیقه و طویل شدن در ۷۲ درجه بمدت ۱ دقیقه دنبال شد. مرحله extension نهایی ۱۰ دقیقه در ۷۲ درجه بود. از پرایمرهای منتشر شده RNAH $_1$ و RNAH $_2$ توسط Blanchard و همکاران برای تشخیص مایکوپلازما هومینیس استفاده گردید (جدول ۱). (۱۶) برای انجام PCR مخلوط واکنش مانند مرحله قبل تهیه شد و در دستگاه ترمال سایکلر قرار گرفت و تکثیر DNA هدف با برنامه دناتوره شدن اولیه ۳ دقیقه در ۹۴ درجه و سپس ۳۰ سیکل با برنامه ۹۴ درجه (دناتوره

جدول ۱. سکانس بازی پرایمر های مورد استفاده

پرایمرهای جنس مایکوپلازما	GSO-Forward (۵'-GGGAGCAAACAGGAT TAG ATACCCT-۳')
	MGSO- Reverse (۵'-TGCACCATCTGTCACTCTGTAAACCTC-۳')
پرایمرهای گونه م. هومینیس	RNAH ₁ -Forward (۵'-CAA TGG CTA ATG CCG GAT ACG C-۳')
	RNAH ₂ -Reverse (۵'-GGT ACC GTC AGT CTG CAA T-۳')

جدول ۲. مقایسه نتایج کشت و PCR برای مایکوپلازما هومینیس

کشت برای م. هومینیس	PCR برای م. هومینیس		PCR برای مایکوپلازماها	
	مثبت	منفی	مثبت	منفی
مثبت (n=۲۰)	۱۶	۴	۱۶	۴
منفی (n=۲۹۲)	۳۴	۲۵۸	۱۰۴	۱۸۶
کل (n=۳۱۲)	۵۰	۲۶۲	۱۲۰	۱۹۲

جدول ۳. فراوانی مایکوپلازما هومینیس برحسب گروههای سنی

۲۷-۱۷	۲۸-۳۷	۳۸-۴۷	
۱۴۳	۱۴۸	۲۱	تعداد نمونه
۳۰	۱۹	۵	تعداد مثبت
%۲۰/۹	%۱۲/۸	%۲۳/۸	درصد (مثبت)

جدول ۴. فراوانی مایکوپلازما هومینیس برحسب علائم بالینی

ناباروری اولیه	ناباروری ثانویه	دارای سقط	بدون سقط	سرویسیت	بدون سرویسیت	ترشح چرکی	بدون ترشح چرکی	
۲۳۸	۷۴	۵۸	۲۵۴	۵۳	۲۵۹	۷۹	۲۳۳	تعداد نمونه
۴۳	۱۱	۸	۴۶	۱۶	۳۸	۱۵	۳۹	تعداد مثبت
%۱۸	%۱۴/۸	%۱۳/۷	%۱۸/۱	%۳۰/۱	%۱۳/۲	%۱۴/۶	%۱۶/۷	درصد (مثبت)

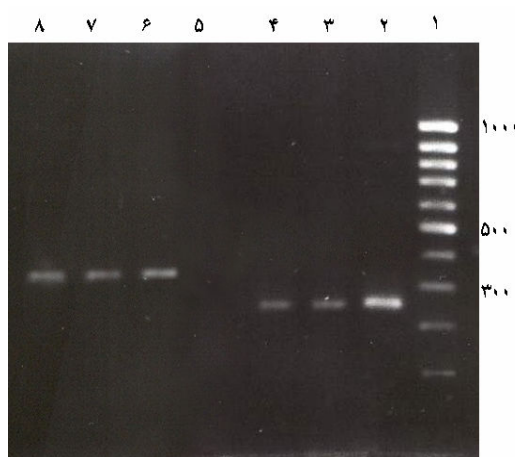
کشت منفی داشت و در نتیجه حساسیت کشت نسبت به نتایج PCR، ۳۲٪ و نسبت به کل نتایج ۳۷٪ می‌باشد. در کل با استفاده از کشت و PCR، مایکوپلازما هومینیس در ۱۷/۳٪ (۵۴)

با ۴ نمونه با PCR منفی شده بود که در این صورت حساسیت PCR نسبت به نتایج کشت، ۸۰٪ و نسبت به کل نتایج ۹۲/۵٪ خواهد بود. در حالیکه از ۵۰ نمونه مثبت با PCR، ۳۴ نمونه،

مایکوپلاسما هومینیس نسبت به سایر مایکوپلاسمای انسانی آسانتر در شرایط آزمایشگاهی رشد می‌یابد ولی در مقایسه با باکتری‌های دیگر دلیل نداشتن دیواره سلولی به شرایط محیطی نظیر PH، دما و ترکیبات موجود در محیط کشت بسیار حساس است و به هنگام نمونه برداری و یا انتقال به آزمایشگاه ممکن است باکتری ضعیف و یا از بین رفته باشد و در محیط‌های کشت قابل بازیابی نباشد. در حالی که در روش PCR برای انجام آزمایش نیاز به باکتری زنده نیست و بنابراین نتایج کمتر تحت تاثیر نمونه برداری و انتقال قرار می‌گیرد. از طرف دیگر کشت مایکوپلاسما 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 آن را پرهزینه و با اتلاف وقت همراه می‌نماید. در حالی که با روش PCR می‌توان در عرض چند ساعت چندین نمونه را بطور همزمان مورد آزمایش قرار داد و نتایج را منعکس نمود. (۲۱، ۲۰، ۱۰) حساسترین روش کشت برای مایکوپلاسمها استفاده از کشت روی محیط برات و سپس دیدن کلنی باکتری بر روی محیط آگار است. Serin و همکاران حساسیت کشت برای مایکوپلاسما هومینیس را ۷۰/۳٪ و PCR را ۱۰۰٪ گزارش نموده‌اند. (۲۲) در حالیکه Stellrecht و همکاران حساسیت کشت را ۶۵٪ و PCR را ۸۷٪ ذکر کرده‌اند. (۲۳) در تحقیق حاضر، اگر مجموع نتایج کشت و PCR را کل نمونه‌های مثبت (۵۴ نمونه) برای مایکوپلاسما هومینیس در نظر بگیریم. بنا بر این ۲۰ نمونه مثبت با کشت فقط بیانگر ۳۷٪ نمونه‌های مثبت خواهد بود. در حالی که نمونه‌های PCR مثبت، ۹۲/۵٪ کل نمونه‌های مثبت را تشکیل می‌دهند و PCR در مقایسه با کشت از حساسیت خیلی زیادی برخوردار است. در این تحقیق چهار نمونه بیمار کشت مثبت ولی نتیجه منفی با PCR داشتند نتایج مشابهی توسط سایر محققان هم ارائه شده است (۲۲-۲۵) و احتمالاً ناشی از تجزیه DNA باکتری و یا وجود مهار کننده‌های واکنش PCR در نمونه‌های کلینیکی است. وجود خون (هموگلوبین) در نمونه یک مهارکننده برای واکنش PCR است

نمونه) نمونه‌ها تشخیص داده شد.

سن بیماران از ۱۷ تا ۴۵ سال بود و فراوانی مایکوپلاسما هومینیس بر اساس سن بیمار در جدول ۳ نشان داده شده است. اختلاف معنی‌دار آماری بین سن بیماران گروه مثبت برای مایکوپلاسما هومینیس مشاهده نگردید. مایکوپلاسما هومینیس در ۳۰/۱٪ بیماران دارای سرویسیت تشخیص داده شد که در مقایسه با سایر بیماران، اختلاف معنی‌داری ($P < 0.01$) را



شکل ۱. آنالیز الکتروفوریتیک محصولات PCR برای جنس مایکوپلاسما و مایکوپلاسما هومینیس: ۱- مارکر bp ۱۰۰، ۲- سویه رفرانس (۲۷۰ bp)، ۳ و ۴- نمونه‌های مثبت بیمار برای جنس مایکوپلاسما، ۵- کنترل منفی، ۶- سویه رفرانس (۳۳۴ bp)، ۷ و ۸- نمونه مثبت بیمار برای گونه مایکوپلاسما هومینیس

نشان می‌دهد. ولی ارتباط معنی‌داری بین وجود این باکتری با سایر علائم بالینی مشاهده نگردید. (جدول ۴).

بحث

در این تحقیق با استفاده از روش PCR و کشت فراوانی مایکوپلاسما هومینیس را در نمونه‌های اندوسرویکس زنان نابارور نشان دادیم. PCR روش آسان، سریع، بسیار حساس و اختصاصی است. که برای تشخیص مایکوپلاسمها از نمونه‌های بالینی مورد استفاده قرار گرفته است. (۱۷-۱۹) با اینکه

ارتباط دارد (۱۸-۲۱،۲۶-۳۲) و مخصوصاً نشان داده‌اند که به هنگام بارداری می‌تواند سبب تولد نوزاد زودرس و یا نوزاد کم وزن گردد. (۳۳،۹) اکتساب مایکوپلازما هومینیس طی عبور از کانال زایمان نیز گزارش شده که سبب عفونت خون، پنومونی، مننژیت و آبسه‌های مغزی در نوزادان می‌گردد. (۳۴،۳۳،۷) با توجه به اینکه مایکوپلازما هومینیس باکتری است که می‌تواند از طریق جنسی منتقل گردد و نقش بالقوه در ناباروری مردان (تاثیر بر اسپرم) و زنان (در موارد آسیب لوله‌ها) دارد (۱۱-۱۳) و مخصوصاً با توجه به نقش بارزی که در سقط جنین، تولد زودرس نوزاد و یا نوزاد کم وزن دارد و همچنین بدلیل اینکه کلونیزه شدن مایکوپلازما هومینیس در نوزادان به هنگام تولد می‌تواند سلامتی آنها را به مخاطره اندازد، شناسایی و تشخیص به موقع این باکتری در زنان نابارور که درمان‌های پرهزینه و سخت را متحمل می‌گردند، حائز اهمیت و توجه است.

References

1. Baczynska A, Svenstrup H, Fedder J, Birkelund S, Christianse G. Development of real-time PCR for detection of *Mycoplasma hominis*. BMC. Microbiol ۲۰۰۴; ۴: ۳۵-۴۳.
2. Xiaotian Z, Olson DA, Tully JG, Watson HL, Cassell GH, Gustafson RD, Svien KA, Smith TF. Isolation of *Mycoplasma hominis* from a brain abscess. J Clin Microbiol ۱۹۹۷; ۳۵(۴): ۹۹۲-۹۹۴.
3. McCormack WM. Epidemiology of *Mycoplasma hominis*. Sex transm Dis ۱۹۸۳; ۱۰: ۲۶-۶۲.
4. Mufson MA. *Mycoplasma hominis*: a review of its as a respiratory tract pathogen of humans. Sex transm Dis ۱۹۸۳; ۱۰: ۳۳۵-۳۴۰.
5. Huminer D, Pitlik S, Levy R. Samra Z. *Mycoplasma*

و بنابراین آلودگی نمونه‌های اندوسرویکس با خون (هنگام نمونه‌گیری) می‌تواند احتمالاً دلیلی برای نتایج منفی کاذب باشد. با این همه PCR با حساسیت بسیار زیاد (۹۲٪) و وابستگی کم به شرایط نمونه‌گیری و انتقال، روش مناسب برای تشخیص مایکوپلازما هومینیس است. مخصوصاً زمان لازم برای انجام آزمایش از ۲ تا ۵ روز به کمتر از یک روز کاهش می‌یابد.

در این تحقیق مایکوپلازما هومینیس در ۱۷/۳٪ (مجموع نتایج کشت و PCR) کل ۳۱۲ بیمار نابارور تشخیص داده شد. این میزان در مقایسه با گزارشات مختلف از سایر کشورها (حدود ۲۱ تا ۵۴ درصد) کمتر است. البته تاکید می‌شود که کلونیزه شدن مایکوپلازماها در دستگاه ادراری-تناسلی زنان ارتباط معنی‌دار آماری با عواملی نظیر شرایط اجتماعی-اقتصادی پایین، فقر عفونت‌های باکتریایی یا تک‌یافته‌ای دیگر، استفاده از داروهای پیشگیری از بارداری و مخصوصاً تعداد یاران جنسی دارد. شرایطی که کمتر در بیماران مورد مطالعه این تحقیق وجود داشت.

نتایج بدست آمده در این تحقیق از نمونه‌های زنان نابارور، ارتباط معنی‌دار آماری بین این باکتری با سرویسیت نشان می‌دهد که بدلیل وجود این باکتری درواژن و یا سرویکس خیلی دور از انتظار نیست که در عفونت‌های این ناحیه نقش داشته باشد. ولی ارتباط آماری بین کلونیزاسیون مایکوپلازما هومینیس براساس سن بیماران مشاهده نشد و تشخیص این باکتری در گروه‌های سنی ۱۷ تا ۴۵ سال اختلاف معنی‌داری را نشان ندادند. در گزارشات آمده است که مایکوپلازماهای تناسلی در زنان جوان با فعالیت جنسی زیاد بیشتر مشاهده می‌گردد. (۲۶،۲) بنظر می‌رسد فعالیت جنسی زیاد و مخصوصاً تعداد یاران جنسی بیش از سن در کلونیزه شدن باکتری نقش داشته باشد.

مایکوپلازما هومینیس در غیاب هر نوع بیماری در واژن یا سرویکس پیدا می‌شود ولی با بیماری‌های مختلف دستگاه ادراری-تناسلی نظیر واژینوز باکتریایی، یورتریت، بیماری‌های التهابی لگن، تب بعد از زایمان و سقط جنین، پیلونفریت و سالپنژیت

۳۰۱-۳۰۸.

Undergoing in adenoidectomy or tonsillectomy. *Am Otol Rhinol Laryngol* ۱۹۹۴; ۱۰۳: ۱۳۵-۱۳۸.

۶. Fenkci V, Yilmazer M, Aktepe OC. Have Ureaplasma urealyticum and Mycoplasma hominis infections any significant effect on women fertility? *Infez Med* ۲۰۰۲, ۱۰(۴): ۲۲۰-۲۲۳.

۷. Abdel-Hag N, Asmar B, Brown W. Mycoplasma hominis scalp abscess in the newborn. *Pediatr Infect Dis J* ۲۰۰۲; ۲۱(۱۲): ۱۱۷۱-۷۳.

۸. Mattila PS, Carlson P, Sivonen A, Savola J, Luosto R, Salo J, Valtonen M. Life-threatening Mycoplasma hominis Mediastinitis. *Clin. Infect Dis* ۱۹۹۹; ۲۹: ۱۵۲۹-۳۷.

۹. Poul Vk, Gupta U, Singh M, Nag VL, Takkar D, Bhan MK. Association of genital mycoplasma colonization with low birth weight. *Int J Gynaecol Obstet* ۱۹۹۸; ۶۳: ۱۰۹-۱۱۴.

۱۰. Luki N, Lebe PM, Boucher M, Doray B, Turgeon J, Turgeon J, Brousseau R. Comparison of PCR assay with culture for detection of genital mycoplasmas in perinatal infections. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* ۱۹۹۸; ۱۷: ۲۵۵-۲۶۳.

۱۱. Trum JW, Pannekoek Y, Spanjarad L, Bleker OP, Van Der Veen F. Accurate detection of male subclinical genital tract infection via cervical culture and DNA hybridization assay of the female partner. *INT J Androl* ۲۰۰۰; ۲۳: ۴۳-۴۵.

۱۲. Tyagi P. Mycoplasmal antibodies as determined with an enzyme-linked immunosorbent assay, intubal infertility. *Indian J Med Sci* ۱۹۹۹; ۵۳: ۴۸۱-۴۸۵.

۱۳. Kohn FM, Erdmann I, Oeda T, Mulla KF, Schiefer HG, Schill WB. Influence of urogenital infections on sperm functions. *Andrologia* ۱۹۹۸; ۳۰۹(suppl ۱): ۷۳-۸۰.

and chlamydia in adenoids and tonsils of children triplex polymerase chain reaction for detection and Mycoplasma genitalium in the presence of human DNA *J Gen Microbiol* ۱۹۹۳; ۱۳۹-۲۴۳۱-۳۷.

۱۵. Kuppeveld FJ, Johansson KE, Galama JM, Kissing J, Bolske G, Van der Logt JT, melchers Wj. Detection of mycoplasma contamination in cell cultures by a Mycoplasma group-specific PCR. *Appl Env Microbiol* ۱۹۹۴; ۴: ۱۴۹-۱۵۲.

۱۶. Blanchard A, Yanez A, Dybvig K, Watson HL, Griffiths G, Cassell H. Evaluation of interspecies genetic variation within the ۱۶SrRNA gene of Mycoplasma hominis and detection by polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* ۱۹۹۳; ۳۱(۵): ۱۳۵۸-۶۱.

۱۷. Yoshida T, Maeda SI, Deguchi T, Miyazawa T, Ishiko H. Rapid detection of Mycoplasma genitalium, Mycoplasma hominis, Ureaplasma parvum and Ureaplasma urealyticum organisms in genitourinary by PCR-microtiter plate hybridization assay. *J Clin Microbiol* ۲۰۰۲; ۴۱: ۱۸۵۰-۵۵.

۱۸. Yoshida T, Maeda SI, Deguchi T, Ishiko H. Phylogeny-based rapid identification of Mycoplasmas and Ureaplasmas from urethritis patients. *J Clin Microbiol* ۲۰۰۲; ۴۰: ۱۰۵-۱۱۰.

۱۹. Andrade-Rocha FT. Ureaplasma urealyticum and Mycoplasma hominis in men attending for routine semen analysis. Prevalence, incidence by age and Clinical setting and clinical value. *Urol Int* ۲۰۰۳; ۷۱: ۳۷۷-۸۱.

۲۰. Choppa PC, Vojdani A, Tagle, Andrin R, Magtoto L. Multiplex PCR for detection of Mycoplasma fermentans, Mycoplasma hominis, and Mycoplasma penetrans in cell samples cultures and blood samples of patients with chronic fatigue syndrome. *Moll Cell Probes* ۱۹۹۸; ۱۲:

۲۱. Cultrea R, Dussoix Dr, Romani R, Contini C. Use of PCR to detect mycoplasma DNA in respiratory tract *Microbiol* ۱۹۹۸; ۴۷: ۹۸۳-۹۸۶.
۲۲. Serin MS, Evruke C, Kibar F, Koksai 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* ۲۰۰۱; ۶: ۴۸-۵۲.
۲۳. Stellrecht KA, Woron AM, Mishrik N, Venezia R. Comparison of multiplex PCR assay with culture for detection of genital mycoplasmas. *J Clin Microbiol* ۲۰۰۴; ۴۲: ۱۰۲۸-۳۳.
۲۴. Hitti J, Riley DE, Krohn MA, Hillier SL, Agnew KJ, Krieger JN, Eschenbach DA. Broad-spectrum bacterial rDNA polymerase chain reaction assay for detecting amniotic fluid infection among women in premature labor. *Clin Infect Dis* ۱۹۹۷; ۱۷۷: ۱۴۷۱-۷۷.
۲۵. 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* ۱۹۹۶; ۱۵: ۵۹۵-۹۸.
۲۶. Clegg A, Passey M, Yoannes M, Michael A. High rates of genital *Mycoplasma* infection in the Highlands of Papua New Guinea determined both by culture and *Mycoplasma hominis* from a brain abscess. *J Clin Microbiol* ۱۹۹۷; ۳۵: ۹۹۲-۹۹۴.
۲۷. Arya OP, Tong CYW, Hart CA, Pratt BC, Hughes S, Roberts P, Kirby P, Howel J, McCormick A, Goddard AD, Is *Mycoplasma hominis* a vaginal pathogen? *Sex* ۱۴. Cadieux N, Lebel P, and Brousseau R. Use of a *Transm Inf* ۲۰۰۱; ۷: ۵۸-۶۲.
۲۸. Cedillo-Ramirez L, Gil C, Zago I, Yanez A, Giono S. Association of *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* with some indicators of nonspecific vaginitis. *Revista Latinoamericana de Microbiologia* ۲۰۰۰; ۴۲: ۱-۶.
۲۹. Domingues D, Tavira LT, Duarte A. Genital mycoplasmas in women attending a family planning clinic in Guine-Bissau and their susceptibility to antimicrobial agents. *Acta Tropica* ۲۰۰۳; ۸۶: ۱۹-۲۴.
۳۰. keane FE, Thomas BJ, Gilroy CB. The association of *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, and *Mycoplasma genitalium* with bacterial vaginosis: observations on heterosexual women and their male partners. *Int J STD AIDS* ۲۰۰۰; ۱۱: ۳۵۶-۳۶۰.
۳۱. Fourmaux S, and Bebear C. Urogenital infection linked to chlamydia and mycoplasmas. *Prog Urol* ۱۹۹۷; ۷: ۱۳۲-۱۳۶.
۳۲. Odendaal HJ, Popov I, Schoeman J, Grore D. Preterm labour-is *Mycoplasma hominis* involved? *S Afr Med J* ۲۰۰۲; ۹۲: ۲۳۵-۲۳۷.
۳۳. Chua KB, Ngeow YF, Ng KB, Chye JK, Lim CT. *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis* isolation from cervical secretions of pregnant women and nasopharyngeal secretions of their babies at delivery. *Singapore Med J* ۱۹۹۸; ۳۹: ۳۰۰-۳۰۲.
۳۴. Zheng X, Olson DA, Tully JG, Watson HL, Cassell by a commercial detection Kit. *J Clin Microbiol* ۱۹۹۷; ۳۵: ۱۹۷-۲۰۰.