

تحقیقی

## بررسی آلودگی با میکوپلاسمای ژنیتال در زنان مبتلا به واژینوز باکتریایی کشت منفی با روش PCR

### چکیده

زمینه و هدف: میکوپلاسمای ژنیتال عامل عفونت دستگاه ادراری - تناسلی می باشند. این ارگانسیم‌ها در ارتباط با واژینوز باکتریایی، بیماری التهابی لگن، اندومتریت، سرویسیت، اورتریت غیرگنوکوکی، سقط جنین خودبخودی، تولد نوزاد نارس، پنومونی و مننژیت نوزادی می باشند. این مطالعه برای تعیین میزان توانایی PCR در شناسایی و تشخیص میکوپلاسمای ژنیتال در نمونه‌های کشت منفی زنان مبتلا به واژینوز باکتریایی صورت گرفت.

روش بررسی: مطالعه روی ۱۷۴ بیمار مبتلا به واژینوز باکتریایی مراجعه کننده به یکی از آزمایشگاه‌های تشخیص طبی تهران از بهمن ۸۳ تا آذر ۸۴ صورت گرفت. از دو نمونه سوآب ترشحات ژنیتال، یکی روی محیط‌های کشت اختصاصی میکوپلازما منتقل شده و سوآب دیگر پس از حل شدن در بافر PBS جهت استخراج DNA فریز گردید. برای انجام PCR از پرایمرهای اختصاصی جنس میکوپلازما و اوره‌آپلازما (MGSO, UGSO, My-ins) برای تکثیر ناحیه ۵۲۰ bp ژن 16S rRNA استفاده شد.

یافته‌ها: از ۱۷۴ نمونه، ۷۱ نمونه (۴۰/۸ درصد) از نظر وجود میکوپلازما و یا اوره‌آپلازما با استفاده از کشت، مثبت شده و ۱۰۳ نمونه (۵۹/۲ درصد) منفی شدند. روی این ۱۰۳ نمونه، PCR انجام شد. با استفاده از تکنیک PCR، ۸۹ نمونه (۸۶/۴ درصد) منفی و ۱۴ نمونه (۱۳/۶ درصد) مثبت شدند.

نتیجه‌گیری: با روش PCR می‌توان مواردی از عفونت میکوپلاسمائی را شناسائی کرد که در روش کشت تشخیص داده نمی‌شود.

کلیدواژه‌ها: میکوپلازما همینیس - میکوپلازما ژنیتال - اوره‌آپلازما  
اوره‌آلیتیکوم - واژینوز باکتریایی - PCR

### شیده وطنی

کارشناس ارشد میکروپشناسی گروه پاتوبیولوژی  
دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران

### دکتر کیومرث قاضی سعیدی

استاد گروه میکروپشناسی و ایمونولوژی دانشکده پزشکی  
دانشگاه علوم پزشکی گرگان

### مریم محمدی

کارشناس ارشد میکروپشناسی گروه پاتوبیولوژی  
دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران

### علیرضا ناجی

دانشجوی دکتری ویروس‌شناسی، گروه پاتوبیولوژی  
دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران

### دکتر فرح‌دخت فاطمی نسب

استادیار گروه ایمونولوژی دانشکده پزشکی  
دانشگاه علوم پزشکی ایران

### دکتر حجت زراعتی

دکترای آمار، گروه آمار و اپیدمیولوژی دانشکده بهداشت  
دانشگاه علوم پزشکی تهران

### دکتر مینو محرز

دانشیار گروه بیماری‌های عفونی دانشکده پزشکی  
دانشگاه علوم پزشکی تهران

نویسنده مسئول: دکتر کیومرث قاضی سعیدی

پست الکترونیکی: [kiumarsghazisaidi@yahoo.com](mailto:kiumarsghazisaidi@yahoo.com)

نشانی: گرگان، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی گرگان

گروه میکروپشناسی

تلفن: ۰۱۷۱-۴۴۲۱۶۵۱ و ۴۴۲۱۶۵۳

نمابر: ۴۴۲۱۲۸۹

وصول مقاله: ۸۴/۱۱/۲

اصلاح نهایی: ۸۵/۲/۱۷

پذیرش مقاله: ۸۵/۳/۳

## مقدمه

مایکوپلاسماهای ژنیتال عامل عفونت دستگاه ادراری - تناسلی می‌باشند. مایکوپلاسماهومینیس در ارتباط با واژینوز باکتریایی (BV)، بیماری التهابی لگن (PID)، اندومتریس، پیلوفریس، پروستاتیت، تب پس از زایمان و تب پس از سقط جنین، سقط جنین خودبخودی تکرار شونده، تولد نوزاد با وزن پایین و مننژیت نوزادی می‌باشد (۳-۱).

اوره آ پلاسم اوره آلیتیکوم یکی از عوامل اصلی اورتریت غیر گنوکوکی (NGU) در مردان می‌باشد. همچنین عامل ایجاد اپیدیمیت، پروستاتیت و آرتريت اکتسابی از طریق تماس جنسی (سندرم رایتز) (Reiter's syndrome) می‌باشد.

اوره آ پلاسم اوره آلیتیکوم در دوران بارداری در ایجاد کوریوآمنیونیت، زایمان پیش از موعد، سقط جنین خودبخودی و تولد نوزاد نارس نقش دارد. در نوزادان نارس به ویژه نوزادانی که به هنگام تولد دارای وزن کمتر از ۱۵۰۰ گرم می‌باشند، این ارگانیزم ممکن است سبب ایجاد سندرم دیسترس تنفسی، پنومونی و مننژیت گردد (۶-۴).

یکی دیگر از عوامل ایجاد کننده اورتریت غیر گنوکوکی، مایکوپلاسم ژنیتالایوم می‌باشد. این ارگانیزم به طور مستقیم مرتبط با سرویسیت، اندومتریس و بیماری التهابی لگن می‌باشد (۷و۸).

واژینوز باکتریایی (BV) که قبلاً به نام واژینیت گاردنرلایی نامیده می‌شد، عبارتست از تغییر در فلور باکتریایی طبیعی واژن که به کاهش لاکتوباسیل‌ها به ویژه سویه‌های مولد پراکسید هیدروژن و جایگزینی آنها با تعداد زیادی از باکتری‌ها از جمله (گاردنرلا واژینالیس، مایکوپلاسم هومینیس، اوره آ پلاسم اوره آلیتیکوم، باسیل‌های گرم منفی بی‌هوازی، گونه‌های پیتواستریپتوکوک و موبیلونکوس) می‌انجامد (۹). زنان باردار مبتلا به واژینوز باکتریایی در معرض خطر پارگی زود هنگام غشاءهای جنینی، زایمان پیش از موعد، کوریوآمنیونیت، اندومتریس پس از سزارین و سقط جنین خودبخودی قرار دارند (۱۰و۱۱). خطر زایمان زودرس در زنان مبتلا به واژینوز باکتریایی تا ۵ برابر (۱۲) و خطر سقط جنین خودبخودی تا ۵/۵ برابر افزایش می‌یابد (۱۳). مایکوپلاسم هومینیس در واژن ۲/۳ زنان مبتلا به واژینوز

باکتریایی یافت می‌شود. امروزه شکی وجود ندارد که مایکوپلاسم هومینیس به طور قوی در ارتباط با واژینوز باکتریایی می‌باشد (۱۴). اوره آ پلاسم اوره آلیتیکوم نیز در ایجاد واژینوز باکتریایی نقش دارد اما نه به گستردگی مایکوپلاسم هومینیس (۳).

با توجه به اهمیت بیماری‌های ایجاد شده توسط این ارگانیزم‌ها و عواقب وخیمی که به دنبال دارند لازم است که افراد آلوده به سرعت شناسایی و درمان شوند. بنابراین تشخیص این ارگانیزم‌ها مسأله بسیار مهمی است. تشخیص این میکروارگانیزم‌ها معمولاً از طریق کشت صورت می‌گیرد، اما جداسازی آنها از طریق کشت مشکلاتی در پی دارد از جمله زمان طولانی جداسازی که امکان تشخیص سریع و آسان عفونت‌های ژنیتال را فراهم نمی‌کند (برای جداسازی گونه‌های اوره آ پلاسم و مایکوپلاسم هومینیس به ۲ تا ۵ روز و برای کشت مایکوپلاسم ژنیتالایوم گاهی به بیش از ۸ هفته زمان نیاز داریم). همچنین این ارگانیزم‌ها به دلیل سخت رشد بودن به محیط‌های کشت اختصاصی نیاز دارند و می‌توان به گرانی و ناپایداری این محیط‌ها، نیاز به عوامل رشد ضروری و دشواری تهیه این مواد مکمل برای افزودن به محیط کشت، کنترل دقیق PH محیط و غیره اشاره کرد. تست‌های سرولوژیکی به کار رفته در تشخیص عفونت‌های ژنیتال اختصاصی نمی‌باشند [میان مایکوپلاسم ژنیتالایوم و مایکوپلاسم پنومونیه از نظر آنتی‌ژنی واکنش متقاطع وجود دارد (۱۵)]. از جمله روش‌های مؤثر تشخیص می‌توان به واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) اشاره کرد. این روش سریع و اختصاصی بوده و قادر به افتراق میان گونه‌های مختلف مایکوپلاسم می‌باشد (۱و۲).

هدف از انجام این مطالعه تعیین میزان توانایی PCR در شناسایی و تشخیص مایکوپلاسم‌های ژنیتال در نمونه‌های کشت منفی زنان مبتلا به واژینوز باکتریایی می‌باشد.

## روش بررسی

در این مطالعه توصیفی، ۱۷۴ زن مبتلا به واژینوز باکتریایی مراجعه کننده به یکی از آزمایشگاه‌های تشخیص طبی تهران که بیماری آنان با توجه به علائم بالینی توسط پزشک متخصص بیماری‌های عفونی و پس از تست‌های آزمایشگاهی

CACCACCTGTCATATTGTTAACCTC-3'  
این پرایمرها برای تکثیر ناحیه حدود 520 bp ژن rRNA  
16S مایکوپلازما و اوره آ پلازما بکار رفت.

ترکیب PCR Master mix برای هر نمونه: ۵ میکرولیتر،  
۲ میکرولیتر، ۱۰ X PCR buffer، ۲ میکرولیتر،  
۵۰ mM Mgcl2  
۲ میکرولیتر، (۱۰ mM) dNTP mix  
۲/۵ میکرولیتر (۱۰ میکرومولار) Primer My- ins  
۱/۲۵ میکرولیتر (۱۰ میکرومولار) Primer UGSO  
۱/۲۵ میکرولیتر (۱۰ میکرومولار) Primer MGSO  
۲۵/۵ میکرولیتر (DDW) آب مقطر دوبار تقطیر استریل  
۱۰ میکرولیتر، DNA، الگو  
۵۰ میکرولیتر، حجم نهایی

فرایند PCR در یک برنامه سه قسمتی به ترتیب زیر انجام  
گرفت:

برنامه اول شامل:

۱ سیکل، ۱۰ دقیقه، ۹۵°C، Initial Cycle

برنامه دوم شامل:

۵۰ سیکل، ۳۰ ثانیه، ۹۴°C، Denaturation

۳۰ ثانیه، ۵۵°C، Annealing

۱ دقیقه، ۷۲°C، Extension

برنامه سوم:

شامل ۱ سیکل، ۷ دقیقه، ۷۲°C، Final Cycle

برای بررسی محصولات PCR از ژل آگارز ۱/۵ درصد به  
همراه اتیدیوم بروماید ۱ میکروگرم/میلی لیتر استفاده شد.  
سپس ژل در زیر دستگاه ترانس لومیناتور مورد بررسی قرار  
گرفت (۱۸).

### یافته‌ها

۱۷۴ نمونه (سوآب واژن) به دست آمده از زنان مبتلا به  
واژینوز باکتریایی کشت داده شدند. ۷۱ نمونه (۴۰/۸ درصد)  
از نظر وجود ارگانسیم‌های مایکوپلازما هومینیس،  
مایکوپلازما ژنیتالوم و اوره آ پلازما اوره آلیتیکوم مثبت شده  
که انواع جنس‌ها و گونه‌های جدا شده به تفکیک در جدول  
یک ذکر گردید و ۱۰۳ نمونه (۵۹/۲ درصد) منفی شدند. ۱۰۳  
نمونه کشت منفی با تکنیک PCR بررسی شدند. با استفاده از  
این تکنیک ۸۹ نمونه (۸۶/۴ درصد) منفی و ۱۴ نمونه (۱۳/۶

تأیید شده بود از بهمن ۸۳ تا آذر ۸۴ مورد بررسی قرار گرفتند.  
با دوسوآب پنبه‌ای از ترشحات واژن نمونه گرفته می‌شد.  
بلافاصله یکی از سوآب‌ها در محیط ترانسپورت  
PPLO Broth بدون کریستال ویوله برای کشت مایکوپلازما  
قرار داده می‌شد. سوآب دیگر را در لوله حاوی بافر PBS  
برای آزمایش PCR قرار داده و کاملاً تکان دادیم و پس از  
خارج کردن سوآب درب لوله را بسته و نمونه تا انجام PCR  
در دمای منهای ۷۰ درجه سانتی گراد فریزر نگهداری می‌شد.

به منظور جداسازی مایکوپلازماهای مورد نظر، محیط  
ترانسپورت PPLO را از فیلتر ۰/۴۵ میکرون عبور داده و به  
محیط‌های مایع اوره، محیط آرژنین مایع و محیط مایع گلوکز  
تلقیح می‌کردیم. شیشه‌های در پیچ‌دار را در حرارت ۳۷ درجه  
سانتی گراد در Candle Jar قرار داده و هر روز لوله‌ها را به  
لحاظ تغییر رنگ و ایجاد رنگ صورتی مایل به ارغوانی بدون  
وجود کدورت مورد بررسی قرار دادیم. اگر تغییر رنگی در  
محیط ایجاد می‌شد، پاساژ آنها به محیط‌های کشت تازه حاوی  
یکی از ترکیبات اوره، آرژنین یا گلوکز صورت می‌گرفت.  
سپس پلیت‌ها در Candle Jar و در انکوباتور در دمای ۳۷  
درجه سانتی گراد قرار می‌گرفت و رشد باکتری‌ها در سطح  
محیط تا ۱۰ روز بررسی می‌گردید. اگر در طی این مدت  
کلنی ایجاد نشد، به عنوان منفی و در صورت ظهور کلنی  
مثبت در نظر گرفته می‌شد (۱۶).

استخراج DNA: ۱ ml از نمونه (بافر حاوی ترشحات  
واژینال) را در لوله ۱/۵ ml ریخته و در دور  
۱۵۰۰۰ rpm به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفوژ نمودیم. رسوب با  
بافر PBS شستشو داده شد. به نمونه بافر هضم کننده  
(Digestion buffer) و پروتیناز k اضافه شده و سپس به مدت  
۲ ساعت در بن ماری ۵۵ درجه سانتی گراد قرار داده شد. برای  
استخراج DNA از روش فنل - کلروفرم استفاده گردید (۱۶).  
PCR:

- پرایمرهای مورد استفاده:

Forward Primer: (نوکلئوتیدهای ۵۲۰ تا ۵۴۵-5') My-ins

GTAATACATAGGTCGCAAGCGTTATC-3'

Reverse Primers: (نوکلئوتیدهای ۱۰۱۲ تا ۱۰۳۶) MGSO-2

(5'-CACCATCTGTCCTGTAAACCTC-3')

UGSO (نوکلئوتیدهای ۹۸۸ تا ۱۰۱۲-5')

درصد) از نظر وجود این ارگانیزم‌ها مثبت شدند.

جدول ۱. توزیع فراوانی مطلق و نسبی افراد مورد بررسی بر حسب نتایج کشت و نوع باکتری جدا شده

نتیجه کشت	تعداد	درصد
مایکوپلازما هومینیس	۸	۱۱/۳
مایکوپلازما ژنیتالایوم	۴	۵/۷
اوره آپلازما اوره آلیتیکوم	۴۳	۶۰/۶
بیش از یک مایکوپلازما	۱۶	۲۲/۴
جمع	۷۱	۱۰۰

از نظر وجود مایکوپلازما و اوره آپلازما مثبت شدند. این نتیجه نشان‌دهنده حساسیت بیشتر PCR در مقایسه با کشت در جداسازی مایکوپلازماهای ژنیتال می‌باشد. نتایج مشابهی در مطالعات انجام شده توسط سایر محققین به دست آمد. مثلاً DA SILVA و همکارانش پژوهشی برای تعیین نقش اوره آپلازما اوره آلیتیکوم و کلامیدیا تراکوماتیس در ایجاد bronchopulmonary dysplasia (BPD) (دیسپلازی برونکوپولموناری) در نوزادانی که با وزن بسیار کم به دنیا آمده‌اند، انجام دادند. در این مطالعه آسپیره‌های Endotracheal, Nasopharyngeal و اطلاعات بالینی از ۱۰۸ نوزاد با وزن کمتر از ۱۵۰۱ گرم در زمان تولد به دست آمد و از نظر وجود اوره آپلازما اوره آلیتیکوم و کلامیدیا تراکوماتیس به وسیله کشت و PCR بررسی شد. اوره آپلازما اوره آلیتیکوم به وسیله کشت در ۴۰ نوزاد (۳۷ درصد) و به وسیله PCR در ۴۹ نوزاد (۴۵ درصد) جدا شد (۱۹).

N-Luki و همکارانش در کشور کانادا با استفاده از تکنیک PCR و کشت مطالعه‌ای برای جداسازی اوره آپلازما اوره آلیتیکوم، مایکوپلازما هومینیس و مایکوپلازما ژنیتالایوم در نمونه‌های بالینی (ترشحات واژن، ترشحات گلو، اندوسرویکس و سوآب‌های پوست) به دست آمده از ۴۷ زن باردار در معرض خطر و ۸ نوزاد تازه دنیا آمده، انجام دادند. با استفاده از تکنیک PCR جداسازی DNA اوره آپلازما در ۳۱ بیمار از ۵۵ بیمار مطالعه شده و مایکوپلازما هومینیس در ۷ نمونه و مایکوپلازما ژنیتالایوم در ۲ نمونه، تسهیل شد. ۴ بیمار PRC مثبت، نتیجه کشت منفی نشان دادند (۲۰).

در تحقیق Yoon و همکارانش، مایع آمنیوتیک به دست آمده از ۱۵۴ بیمار که دچار شکاف زود هنگام غشاء آمنیون شده بودند، از نظر وجود اوره آپلازما اوره آلیتیکوم به وسیله کشت و PCR بررسی و اوره آپلازما اوره آلیتیکوم به وسیله PCR در ۲۸ درصد بیماران و به وسیله کشت در ۱۶ درصد بیماران جدا شد (۲۱).

یکی از نکات بسیار مهم، تشخیص سریع مایکوپلازماهای ژنیتال به ویژه در زنان باردار و نوزادان نارس می‌باشد. این ارگانیزم‌ها در صورت عدم تشخیص و عدم درمان در زنان باردار می‌توانند منجر به سقط جنین خودبخودی، تب پس از

همچنین بیماران از نظر وجود سوابق عفونت مورد بررسی قرار گرفتند. ۶۵ نفر از بیماران (۵۷ درصد) دارای سابقه سقط جنین خودبخودی بودند. ارتباط هر یک از سوابق عفونت به تفکیک با نتیجه PCR و کشت بررسی شد. نتایج نشان داد ۷ درصد از بیماران دارای سابقه سقط جنین خودبخودی دارای نتیجه PCR مثبت بوده و تفاوت از نظر آماری معنی‌دار بود (جدول ۲) ( $P < 0.05$ ).

جدول ۲. توزیع فراوانی مطلق و نسبی نمونه‌های کشت منفی مورد بررسی بر حسب سابقه سقط جنین خودبخودی و نتیجه PCR

سابقه سقط جنین خودبخودی	PCR		-		+		جمع
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	
داشته	۳	۷/۰	۴۰	۹۳/۰	۴۳	۴۳	۱۰۰
نداشته	۸	۲۵/۸	۲۳	۷۴/۲	۳۱	۳۱	۱۰۰
جمع	۱۱	۱۴/۸۷	۶۳	۸۵/۱۳	۷۴	۷۴	۱۰۰

۳ از ۱۰۳ نفر که نتیجه PCR آنها مورد بررسی قرار گرفت، ۷۴ نفر به سؤالات پرسشنامه پاسخ دادند.

## بحث

مایکوپلازماهای ژنیتال عامل عفونت دستگاه ادراری-تناسلی بوده و در ایجاد بیماری‌های مختلف دستگاه تناسلی، اختلالات باروری، بیماری و مرگ و میر نوزادان نقش دارد. بنابراین تشخیص این ارگانیزم‌ها مسأله بسیار مهمی است که باید مورد توجه قرار گرفته و روش تشخیصی مناسبی برای شناسایی این ارگانیزم‌ها به کار رود. با توجه به نتایج به دست آمده از ۱۰۳ نمونه کشت منفی که با تکنیک PCR بررسی شدند، ۸۹ نمونه (۸۶/۴ درصد) منفی و ۱۴ نمونه (۱۳/۶ درصد)

می‌باشند. همچنین این سابقه با نتیجه PCR مقایسه شد. نتایج نشان می‌دهد ۷ درصد از افراد دارای سابقه سقط جنین خودبخودی دارای نتیجه کشت منفی و PCR مثبت بودند (جدول ۲). یعنی با استفاده از روش کشت آلودگی این بیماران با میکوپلاسماهای ژنیتال تشخیص داده نشد و با توجه به نقش میکوپلازما هومینیس و اوره‌آپلازما اوره‌آلیتیکوم در ایجاد سقط جنین این مسأله حائز اهمیت است.

### نتیجه‌گیری

در مجموع در زنان مبتلا به واژینوز باکتریال در ۸۵ مورد (۴۸/۹ درصد) آلودگی با میکوپلاسماهای ژنیتال وجود دارد که روش کشت در ۷۱ مورد (۴۰/۸ درصد) اثبات شد، ولی با روش PCR، ۱۴ مورد دیگر نیز شناسایی گردید. به همین دلیل استفاده از کشت به تنهایی می‌تواند منجر به عدم شناسایی و تشخیص مواردی از عفونت میکوپلاسمایی گردد. براین اساس انجام PCR برای ترشحات واژینال مشکوک پیشنهاد می‌گردد.

### تشکر و قدردانی

از کلیه همکاران آزمایشگاه که در این پروژه ما را یاری نمودند، سپاسگزاری می‌گردد.

زایمان، کوریوآمینیوت، زایمان پیش از موعد و تولد نوزاد نارس گردند. همچنین در نوزادانی که با وزن پایین به دنیا آمده‌اند (به ویژه نوزادانی که هنگام تولد دارای وزن کمتر از ۱۵۰۰ گرم می‌باشند) ممکن است سبب ایجاد سندرم دیسترس تنفسی، پنومونی، مننژیت و مرگ گردند.

در این موارد لازم است که عامل عفونت‌زا به سرعت شناسایی و درمان شود. روش تشخیصی کشت وقت گیر بوده و دستیابی به نتایج به زمان طولانی ۷-۳ روز در مورد میکوپلازما هومینیس و اوره‌آپلازما اوره‌آلیتیکوم و گاهی ۸ هفته در مورد میکوپلازما ژنیتال نیاز دارد. با استفاده از PCR دستیابی سریع‌تر به نتایج امکان پذیر شده و زمان سنجش به ۱ تا ۲ روز کاهش می‌یابد. روش PCR در مقایسه با کشت از اختصاصیت و حساسیت بالاتری برخوردار است.

در این مطالعه PCR میزان شناسایی میکوپلاسماهای ژنیتال را تا ۱۳/۶ درصد افزایش داد. این حساسیت افزایش یافته در نمونه‌های زنان دیده شد و با توجه به میزان بالای انتقال این ارگانسیم‌ها از مادر به جنین و ارتباط آنها با مرگ و میر نوزادان نتایج قابل تأمل است.

نتایج نشان داد که بیشترین افراد مبتلا به واژینوز باکتریایی مطالعه شده (۵۷ درصد) دارای سابقه سقط جنین خودبخودی

## References

- 1) 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 Journal of Medicine. 2001;6(2): 48-52.
- 2) Stellrecht KA, Woron AM, Mishrik NG, Venezia RA. Comparison of multiplex PCR assay with culture for detection of genital mycoplasmas. J Clin Microbiol. 2004; 42(4):1528-33.
- 3) Taylor-Robinson D, Furr PM. Update on sexually transmitted mycoplasmas. Lancet. 1998;351 Suppl 3:12-5.
- 4) Potts JM, Ward AM, Rackley RR. Association of chronic urinary symptoms in women and Ureaplasma urealyticum. Urology. 2000;55(4):486-9.
- 5) Povlsen K, Jensen JS, Lind I. Detection of Ureaplasma urealyticum by PCR and biovar determination by liquid hybridization. J Clin Microbiol. 1998; 36(11):3211-6.
- 6) Cordova CM, Cunha RA. Relevant prevalence of Mycoplasma hominis and Ureaplasma urealyticum serogroups in HIV-1 infected men without urethritis symptoms. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 2000;42(4):185-8.
- 7) Jensen JS. Mycoplasma genitalium: the aetiological agent of urethritis and other sexually transmitted diseases. J Eur Acad Dermatol Venereol. 2004;18(1):1-11.

- 8) Manhart LE, Critchlow CW, Holmes KK, Dutro SM, Eschenbach DA, Stevens CE, et al. *Mucopurulent cervicitis and Mycoplasma genitalium*. J Infect Dis. 2003;187(4):650-7.
- 9) CIGNA. DNA Hybridization Assays and other Gene-Based Tests for vaginitis. Cigna Health Care Coverage Position. 2005. Coverage position Number 0340:1-7.
- 10) Donders GG, Van Bulck B, Caudron J, Londers L, Vereecken A, Spitz B. *Relationship of bacterial vaginosis and mycoplasmas to the risk of spontaneous abortion*. Am J Obstet Gynecol. 2000;183(2):431-7.
- 11) Kurki T, Sivonen A, Renkonen OV, Savia E, Ylikorkala O. *Bacterial vaginosis in early pregnancy and pregnancy outcome*. Obstet Gynecol. 1992;80(2):173-7.
- 12) Hay PE, Morgan DJ, Ison CA, Bhide SA, Romney M, McKenzie P, et al. *A longitudinal study of bacterial vaginosis during pregnancy*. Br J Obstet Gynaecol. 1994; 101(12):1048-53.
- 13) Donders GG. *Bacterial vaginosis during pregnancy: screen and treat?* Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 1999;83(1):1-4.
- 14) 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;45(2):120-6.
- 15) Lind K, Lindhardt BO, Schutten HJ, Blom J, Christiansen C. *Serological cross-reactions between Mycoplasma genitalium and Mycoplasma pneumoniae*. J Clin Microbiol. 1984;20(6):1036-43.
- ۱۶) وطنی، ش. بررسی نتایج PCR در نمونه‌های کشت منفی مایکوپلازما ژنیتالوم، مایکوپلازما هومینیس و اوره آ پلازما اوره آ لیتیکوم در زنان مبتلا به واژینوز باکتریایی. پایان نامه برای دریافت مدرک کارشناسی ارشد میکروبیولوژی دانشکده بهداشت. دانشگاه علوم پزشکی تهران. سال ۱۳۸۴. صفحات ۵۶ تا ۶۵.
- 17) Yoshida T, Maeda S, Deguchi T, Ishiko H. *Phylogeny-based rapid identification of mycoplasmas and ureaplasmas from urethritis patients*. J Clin Microbiol. 2002;40(1):105-10.
- 18) Yoshida T, Maeda S, Deguchi T, Miyazawa T, Ishiko H. *Rapid detection of Mycoplasma genitalium, Mycoplasma hominis, Ureaplasma parvum, and Ureaplasma urealyticum organisms in genitourinary samples by PCR-microtiter plate hybridization assay*. J Clin Microbiol. 2003;41(5):1850-5.
- 19) Da Silva O, Gregson D, Hammerberg O. *Role of Ureaplasma urealyticum and Chlamydia trachomatis in development of bronchopulmonary dysplasia in very low birth weight infants*. Pediatr Infect Dis J. 1997;16(4):364-9.
- 20) Luki N, Lebel P, Boucher M, Doray B, Turgeon J, Brousseau R. *Comparison of polymerase chain reaction assay with culture for detection of genital mycoplasmas in perinatal infections*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 1998;17(4):255-63.
- 21) Yoon BH, Romero R, Kim M, Kim EC, Kim T, Park JS, et al. *Clinical implications of detection of Ureaplasma urealyticum in the amniotic cavity with the polymerase chain reaction*. Am J Obstet Gynecol. 2000;183(5):1130-7.