

Molecular Identification of *Mycoplasma Hominis* in Vaginal Sample of Women Referred to the Infertility Center of Fatemieh Hospital in Hamadan

Hadi Hossainpour¹, Mohammad Yousef Alikhani², Rasoul Yousefi Mashouf³, Manouchehr Karami⁴, Soghra Rabiee⁵

1. MSc student of Microbiology, School of Medicine, Hamedan University of Medical Sciences, Hamedan, Iran. ORCID ID: 0000-0002-3784-2645

2. Professor of bacteriology, School of Medicine, Hamedan University of Medical Sciences, Hamedan, Iran, (Corresponding Author), Tel: +98-81 38276295, Email: alikhani@umsha.ac.ir. ORCID ID: 000-0003-4577-4029

3. Professor of Microbiology, School of Medicine, Hamedan University of Medical Sciences, Hamedan, Iran, (Corresponding Author), Tel: +98-81 38380572, Email: yousefimash@yahoo.com. ORCID ID: 0000-0001-9882-8321

4. Professor of Epidemiology, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran. ORCID ID: 0000-0002-9026-3757

5. Professor of Obstetrics and gynecology, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran. ORCID ID: 0000-0001-7711-5293

ABSTRACT

Background and Aim: *Mycoplasma hominis* is one of the smallest bacteria isolated from a natural source and is sometime as pathologic flora in plants, animals, and humans. Some of these bacteria are normal flora of the respiratory and genital systems. The aim of the study was molecular identification of *M. hominis* in a vaginal sample of women referred to the infertility center of Fatemieh Hospital in Hamadan.

Materials and Methods: In this Cross-sectional study, vaginal swab samples were collected from symptomatic females and *M. hominis* was identified by PCR and Real-Time PCR. DNA was extracted using an extraction kit. *M. hominis* strains were identified using 16 S rRNA gene. Finally, Statistical analysis was performed using SPSS 21 software.

Results: A total of 234 vaginal samples were studied in women with a mean age of 39.8 years. The results showed that *M. hominis* was identified by PCR (13%) and Real-time PCR (15%) methods, respectively. There was a significant relationship between PCR and Real-Time PCR methods ($P \leq 0.05$).

Conclusions: Real-time PCR assay was successfully used for rapid and accurate diagnosis of *M. hominis*. This method has significant potential for rapid, accurate, and is highly sensitive molecular detection of *M. hominis* compared to the PCR technic.

Keywords: *Mycoplasma hominis*, Infertile women, PCR, Real-Time PCR

Received: Aug 1, 2021

Accepted: Aug 14, 2021

How to cite the article: Hadi Hossainpour, Mohammad Yousef Alikhani, Rasoul Yousefi Mashouf, Manouchehr Karami, Soghra Rabiee. Molecular Identification of *Mycoplasma Hominis* in Vaginal Sample of Women Referred to the Infertility Center of Fatemieh Hospital in Hamadan. SJKU 2022;27(3):36-44.

Copyright © 2018 the Author (s). Published by Kurdistan University of Medical Sciences. This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-Non Commercial License 4.0 (CCBYNC), where it is permissible to download, share, remix, transform, and buildup the work provided it is properly cited. The work cannot be used commercially without permission from the journal

شناسایی مولکولی مایکوپلازما هومینیس در نمونه واژینال زنان مراجعه کننده به مرکز ناباروری بیمارستان فاطمیه همدان

هادی حسین پور^۱، محمد یوسف علیخانی^۲، رسول یوسفی مشعوف^۳، منوچهر کرمی^۴، صفرا ربیعی^۵

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد میکروب شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران. کد ارکید: ۰۰۰۰-۰۰۰۲-۳۷۸۴-۲۶۴۵
۲. استاد باکتری شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران (نویسنده مسئول)، پست الکترونیک: alikhani@umsha.ac.ir - تلفن ۰۸۷-۳۸۲۷۶۲۹۵، کد ارکید: ۰۰۰۰-۰۰۰۳-۴۵۷۷-۴۰۲۹
۳. استاد میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران (نویسنده مسئول)، پست الکترونیک: yousefimash@yahoo.com، تلفن ۰۰۰۰-۰۰۰۱-۹۸۸۲-۸۳۲۱، کد ارکید: ۰۰۰۰-۰۰۰۱-۹۸۸۲-۸۳۲۱
۴. استاد اپیدمیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران. کد ارکید: ۰۰۰۰-۰۰۰۲-۹۰۲۶-۳۷۵۷
۵. استاد زنان و زایمان، دانشکده پرستاری و مامایی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران. کد ارکید: ۰۰۰۰-۰۰۰۱-۷۷۱۱-۵۲۴۵

چکیده

زمینه و هدف: مایکوپلازما هومینیس یکی از کوچکترین باکتری‌هایی است که از منابع طبیعی جدا شده و بعضاً به عنوان فلور بیماری‌زا در گیاهان، حیوانات و انسان‌ها یافت می‌شود. برخی از این باکتری‌ها فلور طبیعی دستگاه تنفسی و تناسلی هستند. این مطالعه به منظور شناسایی مولکولی مایکوپلازما هومینیس در مراجعه کنندگان به مرکز ناباروری بیمارستان فاطمیه همدان صورت گرفته است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه مقطعی، نمونه‌های سواب واژن از زنان دارای علائم جمع آوری و توسط PCR و Real-Time PCR شناسایی شدند. DNA با استفاده از کیت استخراج شد. سویه‌های مایکوپلازما هومینیس با استفاده از ژن S rRNA ۱۶ شناسایی شدند. در نهایت، تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار SPSS ورژن ۲۱ انجام گردید.

یافته‌ها: مجموع ۲۳۴ نمونه سواب واژن از زنان با میانگین سنی ۳۹/۸ سال مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد که مایکوپلازما هومینیس به ترتیب با روش PCR ۱۳٪ و Real-time PCR ۱۵٪ شناسایی شد. بین روش PCR و Real-Time PCR رابطه معنی داری وجود داشت ($P \leq 0/05$).

نتیجه گیری: در این مطالعه Real time PCR برای تشخیص سریع و دقیق مایکوپلازما هومینیس به طور موفقیت آمیزی انجام شد. این روش، در مقایسه با روش PCR، دارای پتانسیل قابل توجهی برای تشخیص سریع، دقیق و بسیار حساس مولکولی می باشد.

کلمات کلیدی: مایکوپلازما هومینیس، زنان نابارور، PCR، Real-Time PCR

وصول مقاله: ۱۴۰۰/۵/۱۰ اصلاحیه نهایی: ۱۴۰۰/۸/۱۸ پذیرش: ۱۴۰۰/۸/۲۳

مقدمه

مایکوپلازما فاقد دیواره سلولی است و دارای کوچکترین سلول در میان پروکاریوت ها می باشد (1). این باکتری ها در دستگاه تنفسی فوقانی و در دستگاه ادراری تناسلی کولونیزه می شوند. مایکوپلازما هومنیس و اوراپلازما اوریلیتیکوم به عنوان مایکوپلازماهای دستگاه تناسلی شناخته می شوند که همراه با نایسریا گونوره و کلامیدیا تراکوماتیس شایعترین عوامل بیماری زای منتقله از راه مقاربتی هستند (۲, ۳). شیوع مایکوپلازما هومنیس ممکن است در زنان بدون علامت ۴۰٪ تا ۸۰٪ باشد (۱). این باکتری با اورتریت غیر گنوکوکی، واژینوز باکتریایی، پریتونیت، آرتروز و مننژیت و برخی از بدخیمی ها مانند سرطان پروستات و سرویکس همراه می باشد (۲, ۴). بیماری های ناشی از مایکوپلازما هومنیس باید سریعاً شناسایی و درمان شوند. بنابراین، تشخیص این ارگانسیم یک مسئله بسیار مهم می باشد. کشت مایکوپلازما هومنیس به دلیل، نیازهای پیچیده تغذیه ای به یک متخصص آزمایشگاهی با تجربه نیاز دارد. به کارگیری روش های سرولوژی در تشخیص غیر مستقیم مایکوپلازما هومنیس، به دلیل تغییرات آنتیژن های سطحی این باکتری از حساسیت و ویژگی کافی برخوردار نیستند (۵, ۶). بنابراین، با توجه به مشکلات تشخیص این ارگانسیم با روش های متداول، تشخیص مایکوپلازما هومنیس با استفاده از روش های مدرن و سریع بسیار مهم است. روش های مولکولی از جمله PCR توانایی تشخیص دقیق و سریع این باکتری را دارند. با این حال، نتایج منفی کاذب به دلیل وجود مهارکننده های PCR در نمونه های بالینی رایج است (۷). Real-Time PCR، قادر است مقدار سیگنال تولید شده را در هر لحظه نمایش دهد. لذا، هدف این مطالعه، شناسایی مولکولی مایکوپلازما هومنیس در مراجعه کنندگان به مرکز ناباروری بیمارستان فاطمیه همدان می باشد.

مواد و روش ها

این مطالعه مقطعی بر روی نمونه واژن مراجعه کنندگان به کلینیک ناباروری بیمارستان فاطمیه، همدان انجام شده است. معیارهای ورود شامل: سن ۲۰ تا ۵۰ سال، سابقه ناباروری، ترشحات واژن، سوزش ادرار بدون تشخیص عامل، زایمان زودرس، سابقه سقط جنین و معیارهای خروج از مطالعه: سزارین، مصرف آنتی بیوتیک و بارداری تعیین گردید که بیماران تحت نظر متخصص زنان و زایمان جهت نمونه برداری معرفی می شدند.

نمونه گیری: نمونه گیری پس از توضیح کامل به بیمار و کسب رضایت کتبی طی شش ماه از خرداد تا آبان ۱۳۹۶ صورت پذیرفت. نمونه گیری با توجه به شرایط استریل و با استفاده از اسپکولوم و سواب داکرون انجام گردید. در نهایت سواب ها در لوله حاوی PBS (نمک بافر فسفات X^۱)، pH 7/4 به منفی هفتاد درجه سانتیگراد جهت انجام تست مولکولی منتقل شدند.

استخراج ژن و تشخیص مایکوپلازما هومنیس با استفاده از Real-time PCR: طبق دستورالعمل شرکت سازنده، با استفاده از کیت استخراج DNA (شرکت سینا ژن، ایران) استخراج گردید. همچنین کیفیت استخراج DNA توسط نانو دراپ (Nano drop Technologies, Inc., Wilmington, DE, USA) ارزیابی شد. پرایمرهای تهیه شده از شرکت تکاپو زیست مورد استفاده قرار گرفت (جدول ۱) مخلوط واکنش شامل ۵ میکرولیتر از DNA الگو، ۱ میکرولیتر از هر پرایمر و پروب با غلظت ۱۰ میکرومولار و ۱۲ میکرولیتر از Master mix (Ampliqon) Real Q plus Probe (آلمان) بود. ۵ میکرولیتر آب مقطر دیونیزه جهت تنظیم حجم در ۲۵ میکرولیتر استفاده شد. واکنش Real-Time PCR با استفاده از دستگاه (step ABI one plus) انجام گرفت. سیکل های دمایی برای واسرشتگی اولیه در ۹۵ درجه سانتیگراد به مدت ۵ دقیقه، سپس ۴۵ چرخه حرارتی شامل واسرشتگی ثانویه در ۹۵ درجه سانتیگراد به مدت ۴۰ ثانیه، اتصال آغازگرها در ۶۰ درجه سانتیگراد به مدت ۴۵ ثانیه، تکثیر اولیه هم به مدت ۱

نتیجه‌ی PCR استفاده گردید. در این بررسی از سویه مایکوپلازما هومینیس بیمار ۶۴ که توالی یابی شده بود و مورد تایید قرار گرفته بود به عنوان کنترل مثبت استفاده شد.

دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتیگراد و برای تکثیر نهایی هم در مدت زمان ۷ دقیقه از دمای ۷۲ درجه سانتیگراد جهت انجام هر دو تست استفاده گردید، PCR توسط دستگاه ترموسایکلر (اپندروف، آلمان) انجام گرفت و در نهایت، از روش الکتروفورز در ژل یک و نیم درصد، جهت بررسی

جدول ۱. پرایمرها و پروب‌ها مورد استفاده در مطالعه

پرایمر	Accession number	Size bp	Ref
MH16s rRNA fwd :	Position: 2472-2493	101bp	(24)
(5'-TTTGGTCAAGTCCTGCAACGA-3')	Of Genbank sequence AF443616		
MH16s rRNA rev:	Position: 2553-2572 of		(24)
(5'-CCCCACCTTCCTCCAGTTA-3')	AF443616		
TaqmanProb 5'-vic	Position:2513-2537 of		(24)
(TACTAACATTAAGTTGAGGACTCTA)	AF443616		

مورد (۲۰/۹ درصد) فرزندی نداشتند و ۱۸۵ (۷۹/۱ درصد) مورد دارای فرزند بودند که از این میان، ۱۲۵ نفر (۶۷/۵ درصد) سابقه زایمان طبیعی، ۴۱ نفر (۲۲/۲ درصد) سابقه فقط سزارین و ۱۹ نفر (۱۰/۳ درصد) هم سابقه زایمان طبیعی و سزارین داشته‌اند. بیشترین ویژگی ثبت شده، ترشحات واژن (۶۸/۴ درصد) و سوزش و خارش در واژن (۵۰/۹ درصد) بود. ویژگی‌های ثبت شده در زنان مراجعه کننده به مرکز ناباروری بیمارستان فاطمیه همدان در جدول ۲ اشاره شده است. همچنین نتیجه الکتروفورز محصول در شکل ۱ به همراه منحنی تکثیر Real Time PCR جهت تشخیص مایکوپلازما هومینیس (شکل ۲) گزارش گردید.

آنالیز داده‌ها:

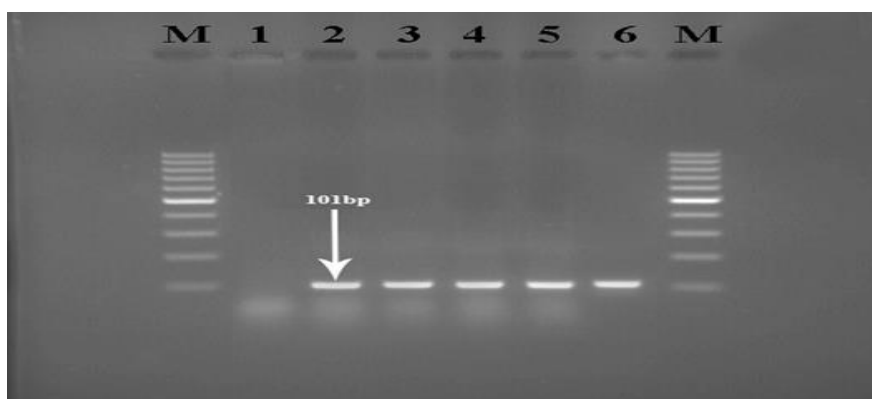
اطلاعات به دست آمده با استفاده از نرم افزار SPSS ویرایش ۲۱ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. متغیرهای کمی به صورت میانگین و انحراف معیار و متغیرهای کیفی به صورت درصد گزارش شدند. سطح P value < ۰/۰۵ برای معنی دار بودن اختلاف در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در این مطالعه ۲۳۴ نمونه واژن از زنان با میانگین سنی ۳۹/۸ (۶/۳۲ ±) مورد بررسی قرار گرفت. از این تعداد نمونه، ۴۹

جدول ۲. ویژگی های افراد مورد مطالعه جهت تشخیص مایکوپلازما هومینیس

ویژگی ها	فراوانی(درصد)	ویژگی ها	فراوانی(درصد)
سابقه زایمان پیش از موعد	۲(۰/۹)	ناباروری	۲۶(۱۱/۱)
داشتن سوزش ادرار	۸۸(۳۷/۶)	سابقه تب پس از زایمان	۱(۰/۴)
داشتن ترشحات واژن	۱۶۰(۶۸/۴)	سابقه سقط جنین	۴۳(۱۸/۴)
داشتن سوزش و خارش در واژن	۱۱۹(۵۰/۹)	سابقه تولد نوزاد زیر ۲/۵ کیلوگرم	۵(۲/۱)

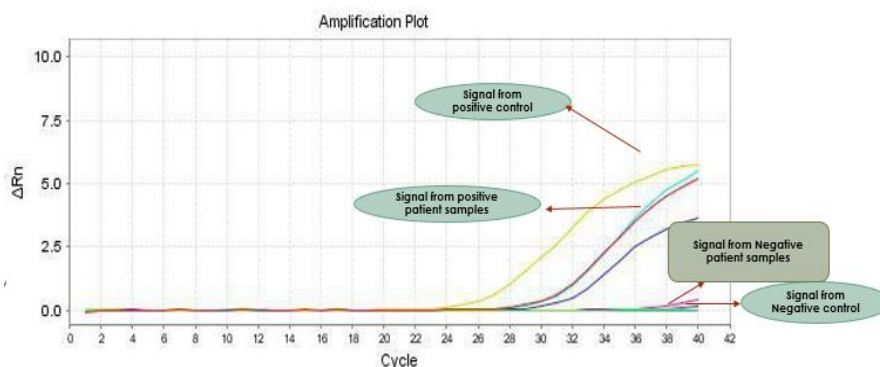


شکل ۱. تصویر الکتروفورز محصولات PCR بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد جهت تشخیص مایکوپلازما هومینیس: مارکر M : DNA مارکر ، چاهک ۱ : کنترل منفی ، چاهک های ۲-۶ : نمونه های مثبت مقایسه تشخیص مایکوپلازما هومینیس به روش PCR و Real Time PCR نشان داد که بین دو روش توافق معنی دار وجود دارد (P value < ۰/۰۵). در این مطالعه حساسیت، ویژگی، دقت، ارزش اخباری مثبت و ارزش اخباری منفی (جدول ۳) برای PCR و Real Time PCR جهت تشخیص مایکوپلازما هومینیس تعیین گردید.

بین نتایج با هیچ یک از مشخصات بالینی رابطه معنی داری وجود نداشت (P value < ۰/۰۵)، با این حال ، ارتباط بین نتیجه PCR طبیعی با سابقه سقط جنین نزدیک به سطح قابل توجه بود (P value = ۰/۰۷۸). ارتباط بین PCR با روش Real-time PCR در سابقه سقط جنین نزدیک به سطح معنی دار بود (P value = ۰/۶۶۴)، اما هیچ رابطه معنی داری بین سایر شاخص ها مانند سوزش ادرار و ترشح واژن با روش Real-time PCR یافت نشد.

جدول ۳. حساسیت ، ویژگی ، دقت ، ارزش اخباری مثبت و ارزش اخباری منفی برای PCR و Real Time PCR جهت تشخیص مایکوپلازما هومینیس

پارامترها	PCR (%)	Real Time PCR (%)
حساسیت	۸۵/۷۱	۸۵/۴۲
ویژگی	۹۱/۸۱	۹۳/۱۸
دقت	۹۱/۴۵	۹۰/۱۷
ارزش اخباری مثبت	۴۰/۰	۲۸/۵۷
ارزش اخباری منفی	۹۹/۰۱	۹۶/۲۴



شکل ۲. منحنی تکثیر *Real Time PCR* جهت تشخیص مایکوپلازما هومینیس: هر منحنی سیگموئید پاسخ مثبت به وجود مایکوپلازما هومینیس را نشان می دهد.

مایکوپلازما هومینیس و ناباروری مشاهده نکردند ، مطابقت نداشت. آنها نشان دادند که ارتباط ناباروری بین وجود مایکوپلازما هومینیس در واژن یا دهانه رحم در ناباروری دور از انتظار است (12). بنابراین ، گزارشات بحث برانگیزی مانند مطالعه موسوی و همکاران در سندج و مطالعه مرادی و همکاران در همدان در مورد ارتباط بین وجود مایکوپلازما هومینیس در رحم و ناباروری در زنان وجود دارد که به تفاوت روش ایزوله باکتریایی ، شرایط اقتصادی اجتماعی و همچنین جمعیت مورد مطالعه نسبت داده می شود (۱۳-۱۵). علاوه بر این ، امیر مظفری و همکاران گزارش کردند که مایکوپلازما هومینیس در گروه سنی ۲۹ تا ۳۹ سال رایج است که با نتیجه مطالعه ما که میانگین سنی ۳۹/۸ بود سازگار است (۱۶). بین کلونیزاسیون مایکوپلازما هومینیس با توجه به سن بیماران ، از ۳۰ تا ۳۹ سال ، همبستگی آماری معنی داری وجود داشت. به نظر می رسد فعالیت جنسی در کلونیزاسیون باکتری ها در سنین بالا نقش دارد. کلونیزاسیون مایکوپلازما هومینیس در سیستم ادراری تناسلی زنان با عواملی مانند وضعیت فرهنگی اجتماعی پایین ، فقر اقتصادی ، عفونت های باکتریایی یا تک یاخته ای ، استفاده از داروهای ضد بارداری و فعالیت جنسی رابطه آماری معنی داری دارد. مطالعه حاضر این گفته را تأیید می کند . مایکوپلازما هومینیس ممکن است در هنگام نمونه برداری یا انتقال به آزمایشگاه ضعیف شده یا از

بحث

مایکوپلازما هومینیس در واژن یا دهانه رحم یافت می شود و با بیماری های مختلف دستگاه تناسلی نظیر واژینوز باکتریایی ، اورتریت ، بیماری التهابی لگن (PID) ، تب پس از زایمان ، سقط جنین ، نقریت و سالپنژیت همراه است (۸). با توجه به بیماری ها و همچنین عوارض ناشی از مایکوپلازما هومینیس ، اهمیت روش های مولکولی مانند *Real-time PCR* و *PCR* مورد توجه می باشد. درحقیقت، همراه با روش های معمول مانند کشت که هنوز در تشخیص مهم هستند ، آینده تشخیص و تحقیقات نیز به استفاده از فناوری مولکولی متکی است (۹). در این مطالعه، بین وجود مایکوپلازما هومینیس در رحم و ناباروری در زنان رابطه معنی داری وجود داشت . با این حال ، تعداد افراد نابارور کم بود، اما فراوانی مایکوپلازما هومینیس در این بیماران قابل توجه بود . لیو و همکاران نشان دادند که شیوع مایکوپلازما هومینیس با روش *PCR* در مردان نابارور در مقایسه با مردان بارور بیشتر است (۱۰). Schlicht و همکاران و OUZOUNOVA-RAYKOVA و همکاران نشان دادند که علاوه بر رابطه معنادار، وجود مایکوپلازما هومینیس توسط *PCR* و *Real-time PCR* ۵۰ درصد و ۹/۹ درصد در افراد نابارور در مقایسه با افراد بارور بیشتر بوده است (۷, ۱۱). نتیجه مطالعه حاضر با مطالعه Casari و همکاران که هیچ رابطه معنی داری بین

که روش PCR حساس تر از کشت است و روش PCR را به عنوان ابزاری سریع در تشخیص نمونه بالینی مایکوپلازما هومینیس گزارش کرده‌اند (۲۱). Ferandon و همکاران، به ترتیب پس از استفاده از روش Real-time PCR و روش کشت، مایکوپلازما هومینیس را به ترتیب با ۳۵/۹ و ۲۹/۴ درصد شناسایی کردند (۲۲). امیر مظفری و همکاران در مطالعه خود نتیجه مشابه را نشان دادند که از بین ۲۱۰ نمونه، ۱۱٪ موارد از نظر کشت برای مایکوپلازما هومینیس مثبت بود، در حالی که دو مورد مثبت با روش مولکولی بدست آمد (۱۶). همچنین، Baczynska و همکاران اظهار داشتند که Real-time PCR می‌تواند به عنوان روش جایگزین کشت استفاده شود (۲۳). آنها اعتقاد داشتند که روش کشت یک روش نامناسب برای تشخیص مایکوپلازما هومینیس است و نسبت به روش های مولکولی حساسیت کافی نسبت به تشخیص مایکوپلازما ندارد، با این حال، به نظر می‌رسد توسعه روش مولکولی در تشخیص مایکوپلازما هومینیس حساس تر از کشت می‌باشد هر چند روش کشت هنوز به عنوان روش استاندارد طلایی جهت شناسایی مایکوپلازما هومینیس در نظر گرفته می‌شود.

نتیجه گیری

علاوه بر حساسیت و ویژگی بالای Real-time PCR در تشخیص مایکوپلازما هومینیس در مطالعه حاضر، با توجه به نتایج، پرایمرهای مورد استفاده در این مطالعه از ویژگی بالایی برای تشخیص این ارگانیسم برخوردار بوده و می‌توان آنها را با اطمینان بالا در طراحی کیت های تشخیص مایکوپلازما هومینیس استفاده کرد. علاوه بر این، با توجه به شیوع بالای مایکوپلازما هومینیس در زنان همدان، پیشنهاد می‌شود برای پیشگیری و کنترل عفونت و عوارض ناشی از آن، آزمایشات مربوط به تشخیص مایکوپلازما هومینیس در تشخیص های آزمایشگاهی گنجانده شود.

بین برود و همچنین کشت مایکوپلازما هومینیس در شرایط مطلوب بیش از ۲ تا ۵ روز طول می‌کشد و به محیط کشت کاملاً تخصصی با مکمل های غذایی و کارکنان آزمایشگاه مجرب نیاز دارد (۱۷). بنابراین، در این مطالعه، از روش های مولکولی برای تشخیص مایکوپلازما هومینیس استفاده شد. در روش های مولکولی، نتایج کمتر تحت تأثیر حمل و نقل نمونه قرار می‌گیرند. در مدت زمان کوتاه، چندین نمونه به طور همزمان قابل آزمایش هستند (۲، ۱۶). با این حال، معایبی مانند تجزیه DNA باکتریایی، وجود مهارکننده های PCR در نمونه های بالینی همچنین وجود هموگلوبین در نمونه (در هنگام نمونه برداری) می‌تواند منجر به نتایج منفی کاذب شود (۱۸، ۱۹). در مطالعه Schlicht و همکاران، چهار مورد منفی کاذب با استفاده از روش PCR مشاهده شد (۷). در مطالعه دیگری که توسط احمدی و همکاران انجام شده است، دو گونه مایکوپلازما هومینیس مثبت وجود داشت که توسط کشت گزارش شد و با استفاده از روش PCR منفی گزارش گردید (۲). در این مطالعه از ژن ۱۶srRNA برای تشخیص مایکوپلازما هومینیس در نمونه های سواب واژن استفاده شد. در حالی که فراندون و همکاران از ژن *YidC* برای تشخیص مایکوپلازما هومینیس استفاده نمودند که پروتئین ترانس لوکوس غشایی را کد می‌کند (۲۰). در مطالعه دیگری که توسط Baczynska و همکاران انجام شد، گلیسرآلدئید-۳-فسفات دهیدروژناز (*gap*) به عنوان ژن حفاظت شده به عنوان هدف برای تشخیص مایکوپلازما هومینیس با روش Real-time PCR استفاده شد (۲۳). مقایسه دو روش مولکولی مورد استفاده در مطالعه حاضر نشان داد که سنجش PCR و Real-time PCR با ۸۹٪/۳۱ در نتایج سازگار بوده که توافق بین دو روش معنی گزارش شد ($P \text{ value} < 0.001$). روش PCR دو برابر حساسیت بیشتری نسبت به روش Real-time PCR دارد، در حالی که ویژگی روش Real-time PCR کمی بالاتر از PCR بود. با این حال، بلانچارد و همکاران اظهار داشتند

تشکر و قدر دانی

نویسندگان این مطالعه تعارض منافی برای انتشار مقاله ندارند.

این پژوهش با حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی همدان انجام شده است و موفق به دریافت کد اخلاق به شماره IR.UMSHA.REC.1395.523 شده است. هیچ کدام از

منابع

1. Razin S. The genus *Mycoplasma* and related genera (class Mollicutes). The prokaryotes. 2006;4:836-904.
2. Gdoura R, Kchaou W, Chaari C, Znazen A, Keskes L, Rebai T, et al. *Ureaplasma urealyticum*, *Ureaplasma parvum*, *Mycoplasma hominis* and *Mycoplasma genitalium* infections and semen quality of infertile men. BMC Infect. Dis. 2007;7(1):1-9.
3. Taylor-Robinson D, Furr PM. Update on sexually transmitted mycoplasmas. The Lancet. 1998;351:S12-S5.
4. Saadat S, Karami P, Jafari M, Kholoujini M, Rikhtegaran Tehrani Z, Mohammadi Y, et al. The silent presence of *Mycoplasma hominis* in patients with prostate cancer. Pathog. Dis. 2020;78(7):ftaa037.
5. Mardassi BBA, Ayari H, Béjaoui-Khiari A, Mlik B, Moalla I, Amouna F. Genetic variability of the P120'surface protein gene of *Mycoplasma hominis* isolates recovered from Tunisian patients with uro-genital and infertility disorders. BMC Infect. Dis. 2007;7(1):1-7.
6. Kouhpayeh Z, Amini K, Moeini A. Detection *Mycoplasma hominis* and *genitalium* in Urine Samples from Athletes and Non-Athletes by Multiplex-PCR Method. AUMS. 2018;7(1):35-42.
7. Schlicht MJ, Lovrich SD, Sartin JS, Karpinsky P, Callister SM, Agger WA. High prevalence of genital mycoplasmas among sexually active young adults with urethritis or cervicitis symptoms in La Crosse, Wisconsin. J. Clin. Microbiol. 2004;42(10):4636-40.
8. Moridi K, Hemmaty M, Azimian A, Fallah MH, Abyaneh HK, Ghazvini K. Epidemiology of genital infections caused by *Mycoplasma hominis*, *M. genitalium* and *Ureaplasma urealyticum* in Iran; a systematic review and meta-analysis study (2000–2019). BMC Public Health. 2020;20(1):1-13.
9. Mygind T, Birkelund S, Christiansen G. DNA sequencing reveals limited heterogeneity in the 16S rRNA gene from the *rrnB* operon among five *Mycoplasma hominis* isolates. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 1998;48(3):1067-71.
10. Liu J, Wang Q, Ji X, Guo S, Dai Y, Zhang Z, et al. Prevalence of *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*, *Chlamydia trachomatis* infections, and semen quality in infertile and fertile men in China. Urology. 2014;83(4):795-9.
11. Ouzounova-Raykova V, Rangelov S, Ouzounova I, Mitov I. Detection of *Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis* in infertile Bulgarian men with multiplex real-time polymerase chain reaction. Apmis. 2015;123(7):586-8.
12. Casari E, Ferrario A, Morengi E, Montanelli A. *Gardnerella*, *Trichomonas vaginalis*, *Candida*, *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* in the genital discharge of symptomatic fertile and asymptomatic infertile women. New Microbiol. 2010;33(1):69.
13. Zheng X, Olson DA, Tully JG, Watson HL, Cassell GH, Gustafson DR, et al. Isolation of *Mycoplasma hominis* from a brain abscess. J. Clin. Microbiol. 1997;35(4):992-4.

14. Mousavi A, Farhadifar F, Mirnejad R, Ramazanzadeh R. Detection of genital mycoplasmal infections among infertile females by multiplex PCR. *Iran. J. Microbiol.* 2014;6(6):398.
15. Moradi F, Yousefi Mashouf R, Yousef Alikhani M, Rabiei S, Parsapour H, Saadat S, et al. Comparison of PCR and culture methods to determine the prevalence of *Mycoplasma hominis* in woman's endocervical samples referred to Infertility Center of Hamadan Fatemeh Hospital in 2016. *Iran. J. Obstet. Gynecol. Infertil.* 2018;20(11):83-92.
16. Amirmozafari N, Mirnejad R, Kazemi B, Sariri E, Bojari MR, Darkahi FD. Comparison of polymerase chain reaction and culture for detection of genital mycoplasma in clinical samples from patients with genital infections. *Saudi Med. J.* 2009;30(11):1401-5.
17. Xu C, Zhang N, Huo Q, Chen M, Wang R, Liu Z, et al. Polymerase chain reaction-hybridization method using urease gene sequences for high-throughput *Ureaplasma urealyticum* and *Ureaplasma parvum* detection and differentiation. *Anal. Biochem.* 2016;499:57-62.
18. Musilova I, Pliskova L, Kutova R, Hornychova H, Jacobsson B, Kacerovsky M. *Ureaplasma* species and *Mycoplasma hominis* in cervical fluid of pregnancies complicated by preterm prelabor rupture of membranes. *J. Matern. -Fetal Neonatal Med.* 2016;29(1):1-7.
19. Mygind T, Zeuthen Sogaard I, Melkova R, Boesen T, Birkelund S, Christiansen G. Cloning, sequencing and variability analysis of the gap gene from *Mycoplasma hominis*. *FEMS Microbiol. Lett.* 2000;183(1):15-21.
20. Klein JO, Buckland D, Finland M. Colonization of newborn infants by mycoplasmas. *NEJM.* 1969;280(19):1025-30.
21. Blanchard A, Yanez A, Dybvig K, Watson H, Griffiths G, Cassell G. Evaluation of intraspecies genetic variation within the 16S rRNA gene of *Mycoplasma hominis* and detection by polymerase chain reaction. *J. Clin. Microbiol.* 1993;31(5):1358-61.
22. Férandon C, Peuchant O, Janis C, Benard A, Renaudin H, Pereyre S, et al. Development of a real-time PCR targeting the *yidC* gene for the detection of *Mycoplasma hominis* and comparison with quantitative culture. *Clin. Microbiol. Infect.* 2011;17(2):155-9.
23. Baczynska A, Friis Svenstrup H, Fedder J, Birkelund S, Christiansen G. The use of enzyme-linked immunosorbent assay for detection of *Mycoplasma hominis* antibodies in infertile women serum samples. *Hum. Reprod.* 2005;20(5):1277-85.
24. Pascual A, Jatón K, Ninet B, Bille J, Greub G. New diagnostic real-time PCR for specific detection of *Mycoplasma hominis* DNA. *Int. J. Microbiol.* 2010;2010.