TUMJ monthly Tehran University Medical Journal
مجله دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، دی ۱۳۹۱، دوره ۷۰، شماره ۱۰، صفحه‌های ۶۲۳ تا ۶۲۹
مقاله اصیل

ردیابی *کلامیدیا تراکوماتیس* و *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* در مایع منی مردان نابارور به روش Multiplex PCR

پریسا صدرپور[۱،۲،۳]
عباس بهادر[۴]، سهیلا عسگری[۵]
رضوان باقری[۱]، لیلی چمنی تبریز[۶*۱]

۱- مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی تولیدمثل، پژوهشگاه فن‌آوری‌های نوین علوم پزشکی جهاد دانشگاهی، ابن‌سینا، تهران، ایران.
۲- مرکز تحقیقات ایدز ایران، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.
۳- دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان.
۴- گروه میکرب‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.
۵- واحد بین‌الملل، دانشگاه علوم پزشکی تهران، کیش، ایران.
۶- مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی و گرمسیری، دانشگاه شهید بهشتی، تهران ایران.

*نویسنده مسئول: تهران، اوین، پژوهشگاه فن‌آوری‌های نوین علوم پزشکی جهاد دانشگاهی، ابن‌سینا.
صندوق پستی: ۱۱۷۷-۱۹۶۱۵، کدپستی: ۱۹۳۶۷۷۳۴۹۳
تلفن: ۰۲۱-۲۲۴۳۲۰۲۰
E-mail: lchamani@avicenna.ac.ir

چکیده

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۰/۱۲/۲۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۰۷/۳۰

زمینه و هدف: *کلامیدیا تراکوماتیس* شایع‌ترین عفونت مقاربتی باکتریایی در جهان است، اما اثر این عفونت بر باروری مردان هم‌چنان مورد بحث می‌باشد. با وجود گزارشاتی مبنی بر میان‌کنش *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* و اسپرم، این پاتوژن نیز در نمونه منی افراد نابارور کم‌تر مطالعه شده است. در این مطالعه فراوانی عفونت *کلامیدیا تراکوماتیس* و *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* در مردان نابارور مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی: از میان مراجعین به مرکز درمان ناباروری ابن‌سینا ۱۲۰ مردی که دارای آزمایش منی غیرطبیعی بودند، انتخاب شدند و از آنان نمونه‌گیری انجام شد. پس از انجام آنالیز مایع منی، DNAی آن‌ها با استفاده از Chelex استخراج گردید. سپس نمونه‌ها توسط آزمون Multiplex Polymerase Chain Reaction (mPCR) از لحاظ حضور این دو پاتوژن ارزیابی شدند و نتایج مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

یافته‌ها: *کلامیدیا تراکوماتیس* و *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* به ترتیب در ۲۳/۳٪ و ۱۲/۵٪ از نمونه‌ها ردیابی شد. اگرچه فراوانی عفونت *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* با افزایش سن (P=۰/۶۴۰) و کاهش سن اولین تماس جنسی (P=۰/۲۰۳) افزایش یافت و هم‌چنین موارد مثبت عفونت *کلامیدیا تراکوماتیس* با افزایش سن (P=۰/۶۱۹) و کاهش سن اولین تماس جنسی (P=۰/۵۱۱) افزایش نشان داد، ولی این تفاوت‌ها از نظر آماری معنی‌دار نبود.

نتیجه‌گیری: با توجه به فراوانی افزایش یافته عفونت *کلامیدیا تراکوماتیس* در مقایسه با تنها مطالعه مشابه در کشور و شیوع بالای عفونت *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* در مردان نابارور به عنوان نتایج حاصل از اولین ارزیابی در کشور، غربالگری مردان نابارور از نظر عفونت *کلامیدیا تراکوماتیس* و *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* از ارزش بالایی برخوردار می‌باشد. به‌علاوه روش mPCR در مقایسه با آزمون Uniplex PCR سریع‌تر می‌باشد و می‌توان به طور هم‌زمان این ارگانیسم‌ها را در نمونه‌های بالینی ردیابی کرد.

کلمات کلیدی: *کلامیدیا تراکوماتیس*، *مایکوپلاسما ژنیتالیوم*، ناباروری مردان.

مقدمه

کلامیدیا تراکوماتیس (Chlamydia trachomatis) با طیف وسیعی از بیماری‌های وخیم در ارتباط می‌باشد.[۱] عفونت‌های تناسلی ناشی از *کلامیدیا تراکوماتیس* در میان فراوان‌ترین بیماری‌های مقاربتی در سراسر جهان قرار دارد. بر آورد می‌شود سالانه چهار میلیون مورد جدید از عفونت کلامیدیا در ایالات متحده آمریکا اتفاق می‌افتد، که هزینه‌ای بالغ بر ۲/۴ بیلیون دلار را در پی دارد. در سراسر جهان نیز تخمین زده شده است که سالانه ۵۰ میلیون مورد جدید از عفونت با این میکروارگانیسم به وقوع بپیوندد.[۲] گزارش مرکز پیشگیری و کنترل

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-12]

بیماری‌های آمریکا (CDC) در سال ۲۰۱۰ حاکی از افزایش ۷/۵٪ عفونت از سال ۲۰۰۶ تا ۲۰۰۷ می‌باشد.[۳] هر چند شیوع عفونت *کلامیدیا تراکوماتیس* در مردان با زنان برابر می‌باشد، اما در حال حاضر به‌دلیل بار بیماری و عواقب ناباروری در زنان رویکردهای تحقیقاتی و بالینی بیش‌تر بر روی زنان متمرکز شده است و اهمیت این پاتوژن در عفونت‌های تناسلی مردان اغلب کم اهمیت تلقی می‌شود. چنان‌چه عفونت *کلامیدیا تراکوماتیس* درمان نشود، می‌تواند به اورتریت غیرگنوکوکی (Non- Gonococal Uretritis (NGU، پروستاتیت یا اپیدیدمیت در مردان و یا بیماری‌های التهابی لگن، سرویسیت، حاملگی نابه‌جا یا ناباروری در زنان منجر شود.[۴و۵] عفونت بیضه و پروستات با ایجاد اثرات نامطلوب بر کیفیت اسپرم یا تخریب مستقیم آن می‌تواند بر باروری تاثیرگذار باشد.

چنان‌که گزارشاتی مبنی بر تاثیر عفونت *کلامیدیا تراکوماتیس* بر قابلیت زنده ماندن، ظرفیت واکنش اکروزم و ایجاد شکستگی در DNA اسپرم نیز وجود دارد.[۵] مطالعات اپیدمیولوژی احتمال وجود ارتباط میان سابقه عفونت *کلامیدیا تراکوماتیس* و کم باروری را هم در مردان وهم در زنان مطرح کرده‌اند.[۶] از آن‌جایی‌که عفونت در ۸۰-۵۰٪ موارد بدون علامت می‌باشد، افراد آلوده‌ی درمان نشده، مخزنی را برای گسترش عفونت از طریق تماس جنسی فراهم می‌آورند. به‌علاوه، ممکن است زنان متعاقب تلقیح مصنوعی Artificial Insemination by Donor (AID) به عفونت *کلامیدیا تراکوماتیس* مبتلا شوند.[۷] *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* اولین بار در سال ۱۹۸۰ از مجرای ادراری تناسلی دو مرد از ۱۳ فرد مبتلا به اورتریت غیرگنوکوکی جدا شده است.[۸]

هرچند جداسازی این باکتری بسیار مشکل می‌باشد اما با بهره‌گیری از Polymerase Chain Reaction (PCR) نشان داده شده است که *مایکوپلاسما ژنیتالیوم (Mycoplasma genitalium)* همواره یکی از عوامل عمده اورتریت غیرکلامیدیایی غیرگنوکوکی (Nongonococcal Nonchlamydial Urethritis, NCNGU) در میان مردان می‌باشد.[۹] این میکروارگانیسم با پروستاتیت مزمن و آرتریت نیز در ارتباط می‌باشد.[۱۰] مشخص شده که *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* با اتصال به اسپرم می‌تواند آن را بی‌حرکت کند و یا ممکن است توسط اسپرم متحرک حمل شده و طی تماس جنسی منجر به ایجاد عفونت و ناباروری در زنان شود.[۱۱] هم‌چنین مطالعات نشان داده‌اند که *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* به‌طور مستقیم با سرویسیت، اندومتریت، بیماری التهابی لگن و عفونت لوله‌ای و در نتیجه ناباروری مرتبط می‌باشد.[۹] در دهه اخیر، نقش *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* به عنوان عامل اورتریت غیرگنوکوکی غیرکلامیدیایی در مردان روشن‌تر شده است. به دلیل مشکل بودن کشت این باکتری، تنها پس از ظهور روش‌های اختصاصی PCR امکان ردیابی دقیق این پاتوژن افزایش یافته است.[۱۲] با توجه به نقش این دو باکتری در عفونت تناسلی مردان، درگیری اسپرم و احتمال ناباروری مردان با هر یک از این دو میکروارگانیسم، در این مطالعه تصمیم گرفته شد که وجود این دو پاتوژن در مایع منی مردان نابارور مورد بررسی قرار گیرد.

بر اساس دانسته‌های ما، مطالعه حاضر برای اولین بار در کشور به بررسی عفونت *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* در مردان نابارور می‌پردازد و دومین مطالعه در خصوص بررسی میزان آلودگی *کلامیدیا تراکوماتیس* در این گروه از مردان می‌باشد.

روش بررسی

در یک مطالعه مقطعی در سال ۱۳۸۹ از بین مراجعین به مرکز درمان ناباروری ابن‌سینای تهران کلیه زوجین ناباروری که مردان آن‌ها دارای تست غیرطبیعی آنالیز مایع منی بودند، مورد بررسی قرار گرفتند. بر اساس تعریف ناباروری، این افراد کسانی بودند که بعد از یک سال نزدیکی منظم بدون جلوگیری صاحب فرزند نشده بودند.[۱۳] از بین این افراد کسانی که بر اساس معیارهای سازمان بهداشت جهانی (World Health Organization, WHO) دارای آنالیز مایع منی غیرطبیعی بودند،[۱۳] به‌عبارتی حداقل یکی از شاخص‌های تعداد، مورفولوژی، حرکت و زنده بودن اسپرم و هم‌چنین میزان گلبول‌های سفید در آن‌ها نقص داشت، شناسایی و انتخاب شدند. به این ترتیب ۱۲۰ مرد نابارور وارد مطالعه شدند. پس از اخذ رضایت‌نامه کتبی و آگاهانه، نمونه منی از این افراد با روش استمناء (Masturbation) گرفته شد. نمونه‌ها به‌صورت روزانه در بخار ازت به آزمایشگاه تحقیقاتی پژوهشگاه ابن‌سینا منتقل و تا زمان انجام آزمایش در $^{\circ}C$ ۷۰- نگه‌داری شد.

استخراج DNA: DNA نمونه‌ها با استفاده از روش (Chelex-100 (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Germany به همراه

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-12]

پروتیناز K (Roche, Mannhein, Germany) و Dithiothreitol (DTT) (BDH Chemicals Ltd. UK) استخراج شد.[۱۴] ۵۰µl از نمونه منی به ترتیب با ۲µl از پروتیناز K (۲۰mg/ml) و ۲µl از DTT (۱M) در سدیم استات (۰/۰۱M) و ۱۵۰µl از Chelex ۵٪ مخلوط شد. مخلوط فوق به مدت یک ساعت و ۳۰ دقیقه در دمای $37^{\circ}C$ انکوبه شد. پس از انکوباسیون نمونه‌ها به مدت پنج تا ۱۰ ثانیه با سرعت بالا ورتکس گردید. سپس به مدت ۲۰ ثانیه با سرعت ۱۵۵۰۰g سانتریفوژ صورت گرفت. و پس از آن میکروتیوب‌های حاوی نمونه به مدت هشت دقیقه در دمای جوش قرار گرفتند.

مجدداً نمونه‌ها با سرعت بالا به مدت پنج تا ۱۰ ثانیه ورتکس شدند و بعد با سرعت ۱۵۵۰۰g برای مدت سه دقیقه سانتریفوژ انجام گرفت. در مرحله آخر محلول رویی حاوی DNA به میکروتیوب جدید منتقل شده و DNA استخراج شده تا زمان انجام PCR در دمای $-20^{\circ}C$ نگه‌داری شد.

PCR: توالی و مشخصات پرایمرهای مورد استفاده در جدول ۱ آورده شده است.[۱۵] پرایمرهای *کلامیدیا تراکوماتیس* پس از انجام PCR، قطعه‌ای به طول ۲۰۰bp و جفت پرایمر *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* قطعه‌ای به طول ۳۴۶bp ایجاد می‌کردند (شکل ۱). واکنش Multiplex PCR با استفاده از Taq DNA Polymerase Mastermix RED (Ampliqon, Herlev, Denmark) با حجم کلی ۱۳µl برای هر واکنش انجام پذیرفت. مخلوط واکنش شامل ۶/۲۵µl از Mastermix (۲X)، ۳/۷۵µl آب مقطر دو بار استریل، ۰/۳µl(۱۰pmol/µl) از هر یک از پرایمرهای معکوس و مستقیم برای *کلامیدیا تراکوماتیس* و میزان ۰/۲µl(۱۰pmol/µl) از هر یک از جفت پرایمرهای *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* بود که پس از آن ۱µ از DNA استخراج شده به‌عنوان الگو به مخلوط فوق اضافه شد. برای انجام PCR مخلوط واکنش PCR برای مدت پنج دقیقه در $94^{\circ}C$ قرار داده، سپس ۳۵ سیکل PCR با مشخصات زیر انجام شد:

مرحله Denaturation در دمای $94^{\circ}C$ به‌مدت ۴۰ ثانیه، Annealing در $61/6^{\circ}C$ به‌مدت $45^{\circ}C$ ثانیه، Extension در $72^{\circ}C$ به‌مدت ۴۰ ثانیه. پس از ۳۵ سیکل، به‌مدت پنج دقیقه واکنش در دمای ۷۲ ادامه یافت. محصولات تکثیر شده‌ی PCR با استفاده از الکتروفورز توسط ژل آگاروز ۱/۵٪ حاوی اتیدیوم بروماید ردیابی شد و باندهای DNA با عکس‌برداری توسط دستگاه UV transilluminator (UVP, Ultra-Violet Products Ltd., Upland, CA) مشاهده گردید (شکل ۱). داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS ویراست ۱۳ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. برای بررسی ارتباط سن و سن اولین مقاربت با نتایج تست از آزمون Independent samples t-test استفاده شد. سطح معنی‌داری ۵٪ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

میانگین سنی مردان شرکت‌کننده در این مطالعه ۶/۸۵±۳۴/۶۸ سال (۵۹–۲۲) بود که از میان آنان ۱۲/۵٪ (۱۵/۵٪–۹/۵٪ :CI۹۵٪) از افراد دارای تست مثبت برای *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* بودند و هم‌چنین برای ۲۳/۳٪ (۲۶/۲٪– ۱۸/۸٪ :CI۹۵٪) از این جمعیت تست *کلامیدیا تراکوماتیس* مثبت ارزیابی شد. ۵٪ از افراد (شش نفر از ۱۲۰ نفر) به هر دوی این پاتوژن‌ها آلوده و به‌عبارتی دارای عفونت هم‌زمان (Co-infection) بودند. آزمون Independent samples t-test نشان داد که اگرچه فراوانی عفونت *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* با افزایش سن (P=۰/۶۴۰) و کاهش سن اولین مقاربت (P=۰/۲۰۳) افزایش می‌یابد. هم‌چنین موارد مثبت عفونت *کلامیدیا تراکوماتیس* با افزایش سن (P=۰/۶۱۹) و کاهش سن اولین مقاربت (P=۰/۵۱۱) افزایش نشان می‌دهد ولی این تفاوت‌ها از نظر آماری معنی‌دار نیست. توزیع عفونت *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* و *کلامیدیا تراکوماتیس* بر حسب سن اولین ارتباط جنسی در جدول ۲ آورده شده است.

جدول ۱: مشخصات و توالی پرایمرهای مورد استفاده در Multiplex PCR.

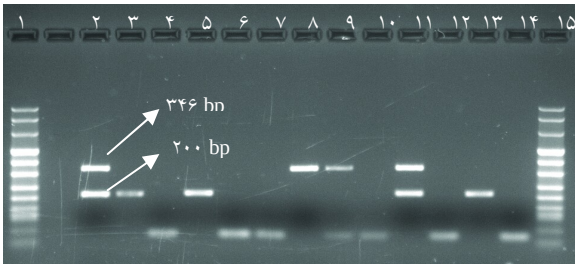
منبع	Size (bp)	پرایمرها	ژن هدف	میکروارگانیسم
S.R. Lee, 2007[۱۵]	۲۰۰	F5'- CTAGGCGTTTGTACTCCGTCA R5'-TCCTCAGGAGTTTATGCACT	*orf8*	*C. trachomatis*
S.R. Lee, 2007[۱۵]	۳۴۶	F5'-AGTTGATGAAACCTTAACCCCTTG R5'-CATTACCAGTTAAACCAAAGCCT	*mgpa*	*M. genitalium*

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-12]

جدول ۲: توزیع عفونت *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* و *کلامیدیا تراکوماتیس* بر حسب سن اولین ارتباط جنسی در میان مبتلایان به هریک از دو عفونت.

فراوانی عفونت / سن اولین رابطه جنسی	*کلامیدیا تراکوماتیس*	*مایکوپلاسما ژنیتالیوم*	مجموع
زیر ۲۰ سال	۵(٪۴)	۱(٪۱)	۶(٪۵)
۲۵-۲۰ سال	۱۵(٪۱۲)	۷(٪۶)	۲۲(٪۱۸)
۳۰-۲۶ سال	۴(٪۳)	۳(٪۲)	۷(٪۶)
۳۵-۳۱ سال	۱(٪۱)	۱(٪۱)	۲(٪۲)
مجموع	۲۵(٪۲۱)	۱۲(٪۱۰)	*۳۷(٪۳۱)

*۳ نفر از افرادی که دارای تست *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* بودند و دو نفر از افراد آلوده با *کلامیدیا تراکوماتیس* سن اولین رابطه جنسی خود را عنوان نکرده بودند.



شکل ۱: نتایج حاصل از الکتروفورز محصولات multiplex PCR.

ستون ۱: مارکر VIII، ستون ۲: کنترل مثبت، ستون ۳ تا ۱۳: نمونه‌ها، ستون ۱۴: کنترل منفی، ستون ۱۵: مارکر VIII

بحث

در این مطالعه ۱۲/۵٪(۱۵/۱۲۰) از افراد دارای تست مثبت برای *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* بودند و برای ۲۳/۳٪(۲۸/۱۲۰) از شرکت کنندگان تست *کلامیدیا تراکوماتیس* مثبت ارزیابی شد. هم‌چنین در بررسی علایم عفونت اورتریت و پروستاتیت (گزارش شده توسط شرکت‌کنندگان)، مشخص گردید که تفاوت معنی‌داری میان افراد دارای عفونت و افراد عاری از آن، وجود ندارد. این موضوع احتمالا به‌دلیل آن است که عفونت توسط این دو باکتری در اکثر افراد مبتلا علامت بالینی ایجاد نمی‌کند. هرچند نقش *کلامیدیا تراکوماتیس* در اورتریت مردان، اپیدیدیمیت و اورکیت به‌طور گسترده‌ای مورد قبول واقع شده است، اما نقش آن در ایجاد پروستاتیت بحث‌برانگیز می‌باشد.[۵] Gdoura در سال ۲۰۰۸ شیوع باکتریو اسپرمیا ناشی از *کلامیدیا تراکوماتیس* در مردان نابارور ۴۱/۴٪[۱۶] و در مطالعه‌ای دیگر فراوانی این پاتوژن در مایع منی شرکای جنسی مرد زوجین نابارور ۴۲/۳٪ و در ادرار همین افراد را ۳۹/۴٪ گزارش کرده‌اند.[۱۷] در همین بررسی شیوع مایکوپلاسماهای ژنیتال در ادرار و مایع منی مردان نابارور هریک به میزان ۴/۸٪ گزارش شده است،[۱۷] هم‌چنین در دیگر بررسی انجام شده توسط همین محقق در سال ۲۰۰۷، ۵٪ از ۱۲۰ نمونه مایع منی مردان نابارور برای *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* مثبت ارزیابی شده است.[۱۸] شیوع *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* به عنوان یک پاتوژن مسبب اورتریت در مردان در سال‌های اخیر رو به افزایش است. مطالعات بسیاری ارتباط قابل توجه میان حضور DNAی *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* و علایم یا نشانه‌های اورتریت را نشان داده‌اند. با این وجود این میکروارگانیسم تاکنون به‌ندرت در منی افراد نابارور مورد مطالعه قرار گرفته است.[۱۸] مطالعه Daudi در فرانسه در سال ۲۰۰۴، ۲/۷٪ از نمونه‌های مایع منی شرکای جنسی مرد فاقد علامت در زوج‌های نابارور برای *کلامیدیا تراکوماتیس* مثبت گزارش کرد.[۱۹] مطالعه‌های مختلفی در کشورهای صنعتی شیوع *کلامیدیا تراکوماتیس* و مایکوپلاسماهای ژنیتال را در شرکای جنسی مرد زوج‌های نابارور و نقش با اهمیت این عفونت‌ها را در برخی موارد ناباروری اثبات کرده‌اند. اما هنوز در کشورهای در حال توسعه موقعیت این مسئله به‌طور مشخص بیان نشده است. برآورد شده است که ۱۵٪ موارد مربوط به ناباروری مردانه با عفونت‌های مجرای تناسلی در ارتباط است. بنابراین تعیین شیوع حضور این پاتوژن‌ها در دستگاه تولیدمثلی مردان ضروری به نظر می‌رسد.[۱۸] در مطالعه انجام شده در کره توسط Lee در سال ۲۰۰۷ بر روی ادرار ۷۰ مرد مبتلا به بیماری‌های منتقله از

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-12]

طریق تماس جنسی (Sexually Transmitted Disease, STD) که توالی پرایمرهای مورد استفاده در مطالعه حاضر با مطالعه مذکور یکسان می‌باشد، فراوانی *کلامیدیا تراکوماتیس* و *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* به‌ترتیب ۲۲/۹٪ و ۲۷/۱٪ گزارش شده است.[۱۵] در ایران مطالعاتی که به بررسی این عفونت‌ها در مردان بپردازند مربوط به بررسی فراوانی عفونت در مردان مبتلا به اورتریت غیرگنوکوکی،[۲۰] مردان پرخطر زندانی و مردان بدون علامت می‌باشد.[۲۱] بر اساس دانسته‌های ما مطالعه‌ای در ایران که میزان عفونت این دو ارگانیسم را در مردان نابارور با استفاده از روش PCR مورد بررسی قرار داده باشد انجام نشده است. تنها یک مطالعه توسط Golshani در سال ۲۰۰۷، شیوع عفونت *کلامیدیا تراکوماتیس* را در این گروه از مردان ۱۷٪ گزارش کرده است.[۴] در تنها مطالعه صورت گرفته در کشورمان بر روی مردان در سال ۲۰۰۳ توسط Salari، با استفاده از سواب یورترا ۷/۲٪ از مبتلایان به اورتریت غیر گنوکوکی دارای تست مثبت برای *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* بوده‌اند.[۲۰] این میزان افزایش قابل توجه در شیوع این ارگانیسم احتمالاً ناشی از تفاوت‌های موجود به ویژه نوع نمونه و یا جمعیت مورد مطالعه می‌باشد، چرا که سواب یورترا به دلیل دردناکی پروسه نمونه‌گیری ممکن است در کیفیت نمونه اثرگذار باشد.[۲۲] میزان اختلاف شیوع مطالعه صورت گرفته توسط Golshani نسبت به بررسی کنونی ممکن است به دلیل بهبود شرایط ردیابی میکروارگانیسم در واکنش باشد و با توجه به این‌که نمونه و تست و جمعیت مورد مطالعه مشابه یک‌دیگر است، این رشد نرخ شیوع می‌تواند با حساسیت افزایش یافته واکنش مورد استفاده در این مطالعه در ارتباط باشد. از طرف دیگر احتمال دارد این افزایش حاکی از گسترش فراوانی این پاتوژن در میان جمعیت مردان نابارور باشد. در ایران طی مطالعه انجام شده توسط Chamani، فراوانی عفونت *کلامیدیا تراکوماتیس* در مردان زندانی ۲/۳٪ و در مقابل در ۰/۷٪ از افراد گروه شاهد گزارش شده است.[۲۱] یکی از عمده‌ترین عوامل تفاوت‌های این مطالعه با مطالعه حاضر که می‌تواند توضیح دهنده این اختلاف شیوع به‌دست آمده باشد، علاوه بر تفاوت در نوع نمونه و جمعیت مورد ارزیابی افزایش حساسیت پرایمر مورد استفاده در مطالعه حاضر می‌باشد. در مجموع به نظر می‌رسد شیوع در کشورهای افریقایی بالاتر از کشور ما و در ایران بالاتر از کشورهای اروپایی است. این اختلاف‌ها می‌تواند ناشی از تفاوت نژاد، شرایط اجتماعی- فرهنگی و حساسیت پرایمر مورد استفاده در تست و حجم نمونه مورد بررسی باشد. بنابراین با توجه به گزارشات موجود مبنی بر اثرات این دو عفونت بر اسپرم و به دنبال آن نقش شرکای جنسی مرد در زوج‌های نابارور و با توجه به نقش مردان در انتقال عفونت و گسترش عفونت ناشی از *کلامیدیا تراکوماتیس* و *مایکوپلاسما ژنیتالیوم*، به نظر می‌رسد نشان دادن رابطه *کلامیدیا تراکوماتیس* و *مایکوپلاسماهای ژنیتال* با ناباروری مردان پیامدهای مهم سلامت عمومی را در پی خواهد داشت. به‌ویژه باید بر روی این موضوع تاکید داشت که، آن چه که در نتیجه این مطالعه در تایید بررسی‌های قبلی به‌دست آمد، به دلیل ماهیت بدون علامت عفونت ایجاد شده توسط این دو پاتوژن، بسیاری از افراد آلوده از عفونت خود آگاهی ندارند. علاوه بر این، با وجود این‌که مطالعات مختلف در کشورهای توسعه یافته نشان داده است که عفونت‌های *کلامیدیا تراکوماتیس* و *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* می‌توانند به ناباروری منجر شود، اما در کشورهای در حال توسعه عفونت‌های ایجاد شده توسط کلامیدیا و مایکوپلاسما به‌خوبی مورد مطالعه واقع نشده و شیوع *کلامیدیا تراکوماتیس* و مایکوپلاسماهای ژنیتال در میان زوج‌های نابارور تعیین نشده است.

امروزه قبل از انجام تکنیک‌های کمک باروری (Assisted Reproductive Techniques, ART) به جز در موارد لکوسایتواسپرمی، درمان آنتی‌بیوتیکی خاصی برای مردان پیشنهاد نمی‌شود، لذا بررسی فراوانی این ارگانیسم‌ها در نمونه مایع منی مردان می‌تواند راهنمایی برای غربالگری‌های بعدی از نظر عفونت‌های بدون علامت و درمان مناسب قبل از شروع درمان‌های کمک باروری باشد. هم‌چنین از آن جایی که عوامل میکروبی متعددی در ایجاد عفونت‌های ژنیتال در هر دو جنس دخالت دارند استفاده از تکنیک Multiplex PCR برای ردیابی طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌های مرتبط با STD در طی تنها یک واکنش می‌تواند علاوه بر کمک شایانی که در شناسایی موارد عفونت هم‌زمان و متعاقباً درمان کامل افراد آلوده و جلوگیری از حضور افراد بیمار درمان نشده در جامعه می‌نماید، اطلاعاتی را نیز در خصوص چگونگی وضعیت پانل پاتوژن‌های متعدد دخیل در اختیار سیستم بهداشتی جامعه بگذارد. اهمیت مسئله موارد عفونت‌های هم‌زمان به‌ویژه در مبتلایان به Human Immunodeficiency Virus (HIV) و آلودگی‌هایی که ماهیت بدون علامت دارند، مشهودتر

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-12]

می‌نماید. هر چند این امر مستلزم ارزیابی این روش برای نمونه‌های مختلف و تلاش برای بهینه‌سازی آن در مطالعات آتی می‌باشد.

سپاسگزاری: این مقاله حاصل بخشی از پایان‌نامه تحت عنوان "فراوانی عفونت *کلامیدیا تراکوماتیس* و *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* در مایع منی مردان مراجعه کننده به مرکز درمانی ابن‌سینا" در مقطع کارشناسی ارشد می‌باشد که در سال ۸۹-۱۳۸۸ با حمایت پژوهشگاه فن‌آوری‌های نوین علوم پزشکی جهاددانشگاهی- ابن‌سینا اجرا شده است.

References

1. Kalayoglu MV, Byrne GI. The genus Chlamydia-medical. In: Dworkin M, Falkow S, Rosenberg E, Schleifer KH, Stackebrandt E, editors. The Prokaryotes: A Handbook on the Biology of Bacteria. 3rd ed. New York, NY: Springer-Verlag; 2006. p. 741-54.
2. Wagenlehner FM, Weidner W, Naber KG. Chlamydial infections in urology. *World J Urol* 2006;24(1):4-12.
3. Carey AJ, Beagley KW. Chlamydia trachomatis, a hidden epidemic: effects on female reproduction and options for treatment. *Am J Reprod Immunol* 2010;63(6):576-86.
4. Golshani M, Eslami G, Mohhammadzadeh Ghobadloo Sh, Fallah F, Goudarzi H, Soleimani Rahbar AA, et al. Detection of Chlamydia trachomatis, Mycoplasma hominis and Ureaplasma urealyticum by Multiplex PCR in Semen Sample of Infertile Men. *Iranian J Publ Health* 2007;36(2):50-7.
5. Cunningham KA, Beagley KW. Male genital tract chlamydial infection: implications for pathology and infertility. *Biol Reprod* 2008;79(2):180-9.
6. Ochsendorf FR. Sexually transmitted infections: impact on male fertility. *Andrologia* 2008;40(2):72-5.
7. Pannekoek Y, Westenberg SM, Eijk PP, Repping S, van der Veen F, van der Ende A, et al. Assessment of Chlamydia trachomatis infection of semen specimens by ligase chain reaction. *J Med Microbiol* 2003;52(Pt 9):777-9.
8. Jensen JS, Borre MB, Dohn B. Detection of Mycoplasma genitalium by PCR amplification of the 16S rRNA gene. *J Clin Microbiol* 2003;41(1):261-6.
9. Haggerty CL, Totten PA, Astete SG, Ness RB. Mycoplasma genitalium among women with nongonococcal, nonchlamydial pelvic inflammatory disease. *Infect Dis Obstet Gynecol*. 2006;2006:30184.
10. Taylor SN. Mycoplasma genitalium. *Curr Infect Dis Rep* 2005; 7(6):453-7.
11. Svenstrup HF, Fedder J, Abraham-Peskir J, Birkelund S, Christiansen G. Mycoplasma genitalium attaches to human spermatozoa. *Hum Reprod* 2003;18(10):2103-9.
12. Hartmann M. Genital mycoplasmas. *J Dtsch Dermatol Ges* 2009;7(4):371-7.
13. Colpi G, Weidner W, Jungwirth A, Pomerol J, Papp G, Hargreave T, et al. EAU guidelines on ejaculatory dysfunction. *Eur Urol* 2004;46(5):555-8.
14. Chandler JE, Canal AM, Paul JB, Moser EB. Collection frequency affects percent Y-chromosome bearing sperm, sperm head area and quality of bovine ejaculates. *Theriogenolog* 2002;57(4):1327-46.
15. Lee SR, Chung JM, Kim YG. Rapid one step detection of pathogenic bacteria in urine with sexually transmitted disease (STD) and prostatitis patient by multiplex PCR assay (mPCR). *J Microbiol* 2007;45(5):453-9.
16. Gdoura R, Kchaou W, Znazen A, Chakroun N, Fourati M, Ammar-Keskes L, et al. Screening for bacterial pathogens in semen samples from infertile men with and without leukocytospermia. *Andrologia* 2008;40(4):209-18.
17. Gdoura R, Kchaou W, Ammar-Keskes L, Chakroun N, Sellemi A, Znazen A, et al. 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 Androl* 2008; 29(2):198-206.
18. 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;7:129.
19. Hamdad-Daoudi F, Petit J, Eb F. Assessment of Chlamydia trachomatis infection in asymptomatic male partners of infertile couples. *J Med Microbiol* 2004;53(Pt 10):985-90.
20. Salari MH, Karimi A. Prevalence of Ureaplasma urealyticum and Mycoplasma genitalium in men with non-gonococcal urethritis. *East Mediterr Health J* 2003;9(3):291-5.
21. Chamani Tabriz L, Asadi S, Zeraati H, Meidani M, Allami A, Asgari S, et al. Prevalence of Chlamydia trachomatis urogenital infection in male asymptomatic prisoners and non-prisoners by PCR. *Tehran Univ Med J (TUMJ)* 2008;65:83-9.
22. Eley A. How to detect Chlamydia trachomatis in males? *J Androl*. 2011;32(1):15-22.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-12]

TUMJ monthly Tehran University Medical Journal *Tehran University Medical Journal, January 2013; Vol. 70, No. 10: 623-629* *Original Article*

Detection of *Chlamydia trachomatis* and *Mycoplasma genitalium* in semen samples of infertile men using multiplex PCR

Parisa Sadrpour M.Sc.[1,2,3]
Abbas Bahador Ph.D.[4]
Soheila Asgari M.Sc.[5]
Rezvan Bagheri M.Sc.[1]
Leili Chamani-Tabriz M.D., M.P.H.[1,6*]

1- Reproductive Biotechnology Research Center, Avicenna Research Institute, Academic Center for Education, Culture and Research (ACECR), Tehran, Iran.
2- Iranian Research for HIV/AIDS, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
3- Islamic Azad University, Lahijan Branch, Iran.
4- Department of Microbiology, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
5- International Campus, Tehran University of Medical Science, Kish, Iran.
6- Infectious Diseases and Tropical Medicine Research Center, Shahid Beheshti University, M.C., Tehran, Iran.

[*] Corresponding author: Reproductive Biotechnology Research Center, Avicenna Research Institute, Academic Center for Education, Culture and Research (ACECR), Evin, Tehran, Iran.
P.o. Box:19615-1177
Tel: +98- 21- 22432020
E-mail: lchamani@avicenna.ac.ir

Abstract

Received: March 15, 2012 Accepted: October 21, 2012

***Background*:** *Chlamydia trachomatis* is the most common bacterial sexually transmitted infection in the world, but the effect of this infection on male fertility is still controversial. Despite reports of interaction between *Mycoplasma genitalium* and sperm, this pathogen in semen samples of infertile men is less studied. We studied, the prevalence of *Chlamydia trachomatis* and *Mycoplasma genitalium* infection in infertile men.

***Methods*:** Among attending Avicenna Infertility Center, 120 men who had abnormal semen analysis tests were selected and the samples were taken. After detailed analysis of semen quality, DNA was extracted from each sample by chelex. Samples were evaluated for these two pathogens by multiplex PCR. Results were statistically analyzed.

***Results*:** *Chlamydia trachomatis* and *Mycoplasma genitalium* was detected in 23/3% and 12/5% of the samples, respectively. Although, *Mycoplasma genitalium* infection rises by increasing (P=0.640) and decreasing in age of first sexually activity (P=0.203), and also positive cases of *Chlamydia trachomatis* infection showed increase regarding age increase (P=0.619) and age decrease in first sexually activity (P=0.511), but these differences were not statistically significant.

Conclusion: All in all, regarding to the increased prevalence of *Chlamydia trachomatis* infection compared with the only similar study in Iran and high prevalence of *Mycoplasma genitalium* infection in infertile men, this assessment was done. A multiplex PCR protocol rapidly and simultaneously identify these organisms in comparison with uniplex from clinical samples. Based on our results screening for *Chlamydia trachomatis* and *Mycoplasma genitalium* infection among infertile men seems to be valuable.

Keywords: *Chlamydia trachomatis*, infertility, male, *Mycoplasma genitalium*.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-12]