

شناسایی مولکولی همزمان نایسیریا گونوره آ و توکسوپلاسمما گوندی از سواب‌های واژینال زنان نابارور با روش زنجیره ای پلی مراز چندگانه

تاریخ دریافت مقاله: ۹۹/۱/۲۹ تاریخ پذیرش: ۹۹/۱۰/۱۷

ناز فاروقی^۱ کیومرث امینی^{۲*}

^۱دانشآموخته کارشناسی ارشد، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد ساوه، دانشگاه آزاد اسلامی، ساوه، ایران.
^۲دانشیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد ساوه، دانشگاه آزاد اسلامی، ساوه، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: نایسیریا گونوره آ و توکسوپلاسمما گوندی از عوامل واژینوز به صورت نادر و کم می‌باشد که از طریق تماس جنسی ممکن است انتقال یابند. هدف از انجام این مطالعه شناسایی مولکولی نایسیریا گونوره آ و توکسوپلاسمما گوندی با استفاده از روش مولتی پلکس پی سی آر می‌باشد.

مواد و روش: در این مطالعه توصیفی - مقطعی بر روی ^{۶۰} بیمار زن نابارور مبتلا به عفونت عالمدار واژن مراجعه کننده به بیمارستان پیامبر اعظم کرمان انجام شد. پس از تکمیل پرسشنامه جمعیت شناختی، ^{۶۰} نمونه سواب از بیماران مبتلا به عفونت واژینال با استفاده از سواب استریل جمع آوری شد. استخراج DNA با استفاده از دستورالعمل شرکت سازنده کیت سیناکلون انجام شد. واکنش زنجیره ای پلیمراز بصورت مولتی پلکس (M-PCR) بر اساس پرایمرهای اختصاصی برای نایسیریاگنوره آ و توکسوپلاسمما انجام شد.

یافته‌ها: نتایج PCR، فراوانی عفونت با نایسیریاگنوره و توکسوپلاسمما گوندی را به ترتیب ^{۷۶/۶} و ^{۱۰/۱} نشان داد.

عفونت همزمان با نایسیریاگنوره آ و توکسوپلاسمما گوندی در هیچ یک از نمونه‌های مورد بررسی تشخیص داده نشد.

نتیجه گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که روش مولتی پلکس PCR برای تشخیص نایسیریا گنوره آ و توکسوپلاسمما در عفونت واژن مناسب بود. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که شیوع عفونت واژن با عوامل اتیولژیک نایسیریا گنوره آ و توکسوپلاسمما گوندی در تهران پایین بود.

کلمات کلیدی: نمونه واژینال، توکسوپلاسمما گوندی، نایسیریا گنوره آ، Multiplex-PCR

نویسنده مسئول:

دکتر کیومرث امینی، دانشکده علوم پایه، واحد ساوه، دانشگاه آزاد اسلامی، ساوه، ایران.

۰۹۱۲۵۴۵۴۰۷۴
E-mail: kumarss_amini@yahoo.com

مقدمه

غربالگری، شیوع عفونت ها در کشورهای توسعه یافته رو به کاهش است؛ اما شیوع گنوکوک در نواحی مدیترانه ای و با وضعیت اقتصادی و تحصیلی پایین، بالاتر گزارش شده است.^۹ اصلاح و پیشرفت راه های تشخیص، درمان و پیشگیری بیماری های متقلله از راه مقابله ضروری می باشد، هنوز این بیماریها از مشکلات بهداشت عمومی در دنیا به شمارمی آیند.^{۱۰} لذا با توجه به ایجاد عواض پرهزینه ناشی از این بیماری در زنان و عدم وجود آمار مشخص فراوانی ابتلا در خانمهای بارور و نابارور ایرانی، این مطالعه با هدف بررسی مولکولی میزان شیوع عفونت نایسیریا گونوره آ و توکسوپلاسمای گوندی در نمونه های سواب واژینال زنان نابارور طراحی گردید.

مواد و روش

نمونه برداری

در این مطالعه توصیفی - مقطعی که در طی یک بازه زمانی ۱۲ ماهه، سال ۱۳۹۴ انجام شد. تعداد ۶۰ نمونه سواب واژینال از زنان نابارور با عفونت علامت دار واژن (واژینوز) مراجعه کننده به درمانگاه بیمارستان پیامبراعظم کرمان در لوله های استریل حاوی سرم فیزیولوژی استریل توسط پزشک متخصص زنان و زایمان جمع آوری شد.

واکنش زنجیره ای پلیمراز

DNA سلولی با استفاده از کیت DNA سیناژن (Cell culture, Tissues, Gram negative Bacteria and CSF) استخراج گردید. تست M-PCR برای شناسایی ژنهای اختصاصی توکسوپلاسمای گوندی و نایسیریا گونوره آ با استفاده از پرایمر های اختصاصی انجام شد (جدول-۱). واکنش PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر انجام شد. هر واکنش PCR شامل ۲۰۰ میکرومول از dNTP، ۱۰ پیکومول از هر پرایمر، ۱/۵ میلی مول در لیتر MgCl₂, ۰/۵ واحد آنزیم Taq و ۵۰ نانوگرم DNA الگو می باشد. واکنش مالتی پلکس PCR در دستگاه ترموساپلکلر به شرح زیر انجام شد. یک سیکل ۵ دقیقه در ۹۵ درجه سلسیوس (دنا توراسیون اولیه) سپس ۳۵ سیکل شامل مرحله واسرت شدن ۳۰ ثانیه در ۹۵ درجه سلسیوس، مرحله

ناباروری یکی از مشکلات مهم در زندگی حدود ۲۵٪ از زوج ها می باشد. عفونت های سیستم تناسلی یکی از عوامل ناباروری می باشد و طیف وسیعی از میکرووارگانیسم ها، با درجات مختلف، در ایجاد ناباروری نقش دارند.^۱ گونوره یا سوزاک، به عنوان یکی از شایعترین و قدیمی ترین بیماری های متقلل شونده از طریق جنسی (STDs) شناخته شده است.^۲ عفونت گنوکوکی در زنان تقریباً بدون علامت می باشد که در موارد علامت دار معمولاً ترشحات واژینال، تکرر ادرار و در صورت گسترش ارگانیسم به لوله های فالوپ و شکم، دردهای شکمی ایجاد می شود. عوارض بیماری در صورت عدم درمان بموقع شامل زایمان زودرس، پارگی کیسه آمنیوتیک و انتقال به جنین در حین زایمان و سوزاک چشمی نوزاد، از عوارض حین بارداری این دیپلوكوک است.^{۳-۵} توکسوپلاسمای گوندی یک پارازیت داخل سلولی اجباری از شاخه آپی کمپلکس است که انتشار جهانی دارد. ابتلا به این عفونت در زمان بارداری می تواند منجر به سقط، مرگ جنین و ناهنجاری مادرزادی شود. همچنین عفونت مادر با افزایش چهار برابر در زایمان قبل از موعد همراه است. احتمال از بین رفتن جنین و همچنین میزان بروز و شدت عفونت مادرزادی به سن جنین در زمان ابتلای زن حامله بستگی دارد.^۶ این انگل از طریق خوردن آب و سبزی های آلوده به اووسیست و یا از طریق خوردن گوشت های خام یا نیم پخته آلوده به انگل، به انسان متقل می شود. جنین زنان بارداری که عفونت را برای اولین بار کسب می کنند، ممکن است سقط شود یا با عوارض مغزی شدید و عقب افتادگی به دنیا بیاید.^۷ در این میان توکسوپلاسمای گوندی یکی از تک یاختگانی است که قادر به آلوده نمودن سیستم تناسلی جنس مذکور و مؤنث است و بیشترین تحقیقات در مورد توکسوپلاسموزیس مادرزادی و انتقال داخل رحمی آن انجام شده است.^۸ یکی از روش های شناسایی گنوکوک و توکسوپلاسمای PCR روی نمونه سواب های واژینال می باشد که بر طبق مطالعات متفاوت حساسیت و ویژگی آن نزدیک به ۱۰۰٪ گزارش شده است. در حال حاضر با انجام

بروز گونوره در مراجعین به کلینیک در اروپای غربی ۱-۵٪ و در استرالیا ۱۵-۲۰٪ گزارش شد و زنان آفریقایی از بقیه ملل، بیشتر دچار این عفونت بودند.^{۱۶} مردانه و همکارانشان (۲۰۱۳) به تشخیص نایسیریا گونوره آ در زنان باردار به کمک روش کشت و انجام PCR بر روی ژن cppB پرداختند. در این مطالعه مقطعی، دو نمونه سواب اندوسرویکس از ۱۱۰۰ زن باردار مراجعه کننده به بیمارستان‌های شیراز گرفته شد. کشت بر روی محیط‌های انتخابی و غیرانتخابی نایسیریا گونوره آ و آزمایش تکثیر اسید نوکلئیک (NAAT) به منظور جستجوی ژن cppB نایسیریا گونوره آ صورت پذیرفت. نتیجه کشت کلیه نمونه‌های سواب اندوسرویکس بر روی محیط‌های کشت انتخابی و غیرانتخابی از نظر نایسیریا گونوره آ منفی بود. نتیجه آزمایش PCR بر روی نمونه‌های سواب جهت ژن منفی بود. نتیجه آزمایش PCR بر روی نایسیریا گونوره آ در ۱۳ مورد (۱/۱۸ درصد) مثبت بود.^{۱۷} Mahoney و همکارانش در سال ۱۹۹۵ روش multiplex PCR را برای نایسیریا گونوره آ و کلامیدیا تراکوماتیس راه اندازی نمودند و در سال ۱۹۹۷ این روش را به گونه‌ای تغییر دادند که بتواند برای شناسایی همزمان چهار باکتری بکار رود.^{۱۸} در مطالعه سال ۱۹۹۵ آقای Mahoney و همکارانش حساسیت و ویژگی multiplex PCR نسبت به PCR نایسیریا گونوره آ ۹۲/۳٪ و ۱۰۰٪ و نسبت به PCR کلامیدیا تراکوماتیس ۱۰۰٪ مشخص گردید در صورتیکه در مطالعه سال ۱۹۹۷ این محقق و همکارانش حساسیت و ویژگی multiplex PCR نسبت به PCR نایسیریا گونوره آ ۱۰۰٪ و ۱۰۰٪ نسبت به PCR کلامیدیا تراکوماتیس ۹۷/۸٪ و ۱۰۰٪ به دست آوردند.^{۱۹} مطالعات اپیدمیولوژی مختلفی در ارتباط با این دو باکتری کلامیدیا تراکوماتیس و نایسیریا گونوره آ انجام شده است. به طور مثال آقای Hayakawa و همکارانش در سال ۲۰۰۲ توانستند ۴۹/۸٪ آلودگی به نایسیریا گونوره آ، ۱۱/۳٪ آلودگی به کلامیدیا تراکوماتیس و ۱۱/۱٪ آلودگی همزمان به این دو باکتری را در افراد مبتلا به اورتیت با روش PCR در کشور ژاپن شناسایی نمایند.^{۲۰} در همان سال آقای Zachariah و همکارانش در کشور ملاوی با روش PCR آلودگی به نایسیریا گونوره آ را ۸۰٪ و آلودگی به کلامیدیا تراکوماتیس را ۲٪ در افراد مبتلا به اورتیت به دست آوردند.^{۲۱} در صورتیکه Pepin و همکارانش در ۷ کشور آفریقای غربی و با روش PCR آلودگی به نایسیریا گونوره آ را ۱۶/۹٪ و آلودگی به کلامیدیا

اتصال ۴۰ ثانیه در ۵۷ درجه سلسیوس و مرحله طویل شدن ۱ دقیقه در ۷۲ درجه سلسیوس و نهایتاً یک سیکل ۵ دقیقه در ۷۲ درجه سلسیوس. محصولات PCR از نظر حضور ژن‌های مورد نظر با انجام الکتروفورز بر روی ژل آکارز ۱٪ و پس از رنگ آمیزی با اتیدیوم بروماید بررسی شدند.

نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که اجرای فرآیند واکنش زنجیره ای بی‌سی آر برای شناسایی DNA توکسوپلاسمما گوندی و نایسیریا گونوره آ در نمونه‌های مطالعه متناسب می‌باشد. میانگین سنی افراد تحت مطالعه 23 ± 5.6 بود. از ۶۰ نمونه تحت بررسی ۶ نمونه (۱۰٪) از نظر وجود DNA توکسوپلاسمما گوندی و ۴ نمونه (۶/۶٪) از نظر وجود نایسیریا گونوره آ مثبت بودند. در هیچ یک از نمونه‌های تحت بررسی وجود هر دو ژن یافت نشد. موارد مثبت PCR در ژل آکاروز برای توکسوپلاسمما گوندی باند در ناحیه bp ۵۸۷ و برای نایسیریا گونوره آ ۱۶۲ bp مشاهده شد (شکل ۱).

بحث

نتایج این مطالعه نشان داد، فراوانی عفونت با توکسوپلاسمما گوندی و نایسیریا گونوره آ به ترتیب ۱۰٪ و ۶/۶٪ بود. ضمن این که آلودگی هم زمان به توکسوپلاسمما گوندی و نایسیریا گونوره آ مشاهده شد. براساس مطالعات انجام شده قبلی در ایران میزان فراوانی این دو میکرووارگانیسم قرار نگرفته است. فتح الله زاده و همکارانشان (۲۰۰۴) فراوانی نایسیریا گونوره آ در بیماران مبتلا به اورتیت را ۴۶٪ گزارش نمودند. میزان عفونت گنوکوک در زنان شیرازی مبتلا به سرویسیت ۱/۹۴٪ و در کرمان در زنان علامت دار و بدون علامت ۰/۴٪ گزارش شد.^{۱۱} در مطالعه دیگری در بابل میزان عفونت با نایسیریا گونوره آ در زنان غیر باردار ۰/۲٪ گزارش شد.^{۱۲} در مطالعه ای که به وسیله رسیدی و همکاران با عنوان بررسی فراوانی نایسیریا گونوره آ در زنان نابارور و بارور تهرانی انجام شد، در هر دو گروه، موردي از عفونت مشاهده نشد.^{۱۳} گونوره دومین بیماری شایع مقاربته در آمریکاست.^{۱۴} در زنان باردار استرالیایی، شیوع گونوره ۰/۶٪ گزارش شد^{۱۵} که با مطالعه حاضر مطابقت دارد. به طور کلی

تحریک تشکیل جفت، اختلال فولیکول در تخدمدان، آتروفی رحم و نهایتاً شکست باروری به علت اختلال در عملکرد هیپوتالاموس به عنوان نتیجه ابتلا به عفونت توکسوپلاسموز مزمن است.^۸ Dvorakova-Hortova و همکاران (۲۰۱۴) نشان داده اند یک ارتباط مستقیم بین عفونت با توکسوپلاسمای گوندی و کاهش تناسب اندام تناسلی موش نر مشاهده می شود.^۹ تفاوت در نتایج بعلت تفاوت های فرهنگی در مناطق مختلف باعث گزارش های متفاوت در زمینه شیوع انگل ها و باکتریها می باشد. مطالعه حاضر بر روی افراد مبتلا به واژنوز علامت دار زنان نابارور انجام شده است و این موضوع هم می تواند، دلیلی بر تفاوت در میزان شیوع عفونت میکروبی های نایسیریا گونوره آ و توکسوپلاسمای گوندی با سایر مناطق کشور ایران باشد. در مجموع این مطالعه نشان داد، فراوانی عفونت با دو عامل میکروبی نایسیریا گونوره آ و توکسوپلاسمای گوندی در بیماران مبتلا به عفونت واژن در تهران کم می باشد. به نظر می رسد این موضوع به دلایلی مانند؛ حجم نمونه، متاهل بودن افراد شرکت کننده در مطالعه، کوچک بودن محدوده سرزمینی اجرای مطالعه و بسته بودن روابط به دلیل نظارت و کنترل بر جوانان، آگاهی نسل جوان با بهداشت و راههای پیشگیری از بیماریهای منتقله از راه جنسی و از طرفی فرهنگ و آداب رسوم سنتی این منطقه ارتباط داشته باشد.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله تمامی نویسندهای این مقاله از پرسنل محترم گروه میکروب شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه، بخش زنان بیمارستان پیامبر اعظم کرمان و آزمایشگاه تحقیقاتی پاسارگاد که ما را در اجرای این پژوهه یاری رساندند صمیمانه تقدیر و تشکر می نماییم.

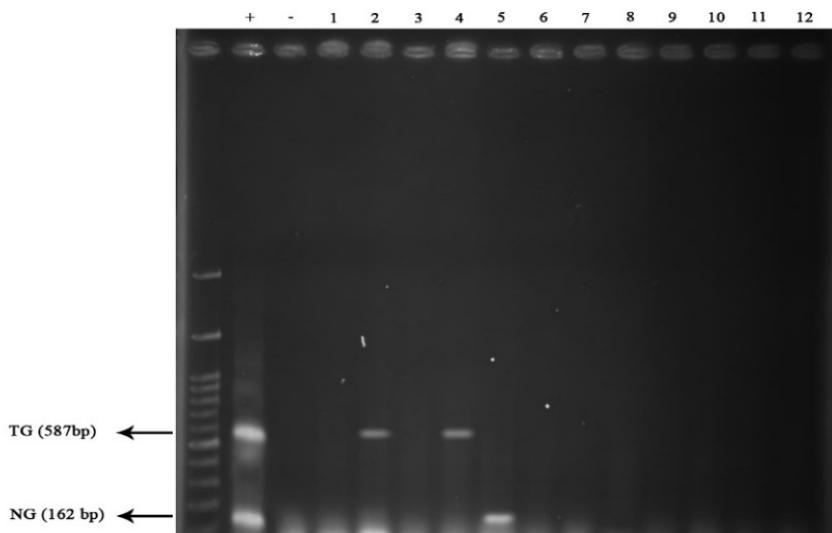
تضاد و تعارض (Conflict of interest)

در بین نویسندهای این مقاله هیچ گونه تضاد و تعارضی وجود ندارد.

تراکوماتیس را ۱۳/۸٪ در سال ۲۰۰۱ مشخص نمودند.^{۱۰} آقای آلدگی به نایسیریا گونوره آ در افراد مبتلا به اورتیت در آفریقا را ۶۹٪ و آلدگی به کلامیدیا تراکوماتیس را ۱۷٪ به دست آوردند.^{۱۱} در مطالعه ای که توسط الزهارانی و همکاران در عربستان سعودی روی غربالگری زنان باردار از نظر عفونت های ناشی از کلامیدیا تراکوماتیس و نایسیریا گونوره آ انجام شده، نایسیریا از زنان باردار جدا نشده است.^{۱۲} چرخه زندگی انگل توکسوپلاسمای شامل دو مرحله تکثیر جنسی در میزبان نهایی (گرمه) و تکثیر غیرجنسی در میزبان واسط (انسان و مهره داران خونگرم) است. خوردن کیست نسجی از طریق گوشت آلدود نیم پز راه دیگر ابتلا به عفونت است. از راههای دیگر انتقال عفونت در انسان، انتقال از مادر به جنین، انتقال سلول های آلدود خونی با پیوند اعضای آلدود است. توکسوپلاسمای گوندی یکی از تک یاختگانی است که قادر به آلدود نمودن سیستم تناسلی جنس مذکر و مؤنث است و بیشترین تحقیقات در مورد توکسوپلاسموزیس مادرزادی و انتقال داخل رحمی آن انجام شده است.^{۱۳} فراوانی انگل توکسوپلاسمای در نمونه های سواب واژن ۶ مورد (۱۰٪) بوده است. Bessières و همکارانشان (۲۰۰۹) مطالعه ای با هدف تعیین شیوع توکسوپلاسموز مادرزادی (CT) و در دوران بارداری انجام دادند. نمونه ها از سال ۱۹۹۴-۲۰۰۵ در دانشگاه تولوز فرانسه از مایع آمنیوتیک زنان باردار در دوران بارداری از ۳۵۲ نفر جمع آوری شد. در این میان ۶۶ نفر (۲۴٪) در روش PCR برای توکسوپلاسموزیس مثبت گزارش شدند.^{۱۴} Zhou و همکارانشان (۲۰۰۲) به بررسی آلدگی به توکسوپلاسمای گوندی در زوج های نابارور در حومه سوزو پرداختند.^{۱۵} Qi و همکارانشان (۲۰۰۵) در مطالعه دیگری در چین میزان شیوع توکسوپلاسموزیس در ناحیه تناسلی مردان را ۱۱٪ گزارش نمودند.^{۱۶} Kaňková و همکارانشان (۲۰۱۵) اظهار داشتند توکسوپلاسموزیس مزمن نسبت به توکسوپلاسموزیس مادرزادی بر روی ناباروری در زنان موثرتر می باشد.^{۱۷} Akarsu و همکاران (۲۰۱۱) نشان داده اند که مکانیزم ناباروری توکسوپلاسمای شامل توسعه عفونت به ناحیه آندومتریت و سقط جنین به دلیل انتشار عفونت کیست توکسوپلاسمای از بافت آندومتر و بدنیان آن

جدول ۱: توالی های نوکلئوتیدی پرایمر جهت شناسایی نیسیریا گونوره آ^{۳۰} و توکسوپلاسمای گوندی^{۳۱}

نام ژن	توالی اولیگوکلئوتیدی ($5' \rightarrow 3'$)	طول قطعه (bp)
پرایمر اختصاصی نایسیریا گونوره آ	CGGCAGCATTCAATTGTT AAAAAGCCGCCATTTTGTA	bp ۱۶۲
پرایمر اختصاصی توکسوپلاسمای گوندی	TOX4(CGCTGCAGGGAGGAAGACGAAAGTTG) TOX5 (CGCTGCAGACACAGTCATCTGGATT)	bp ۵۸۷



شکل ۱: تصویر ژل الکتروفورز محصول PCR با استفاده از آغازگر اختصاصی توکسوپلاسمای گوندی (BP ۵۸۷) و نایسیریا گونوره آ (BP ۱۶۲)

M: Marker 100bp; +: Positive Control; -: Negative Control

References

- Purvis K, Christiansen E. Infection in the male reproductive tract. Impact, diagnosis and treatment in relation to male infertility. International journal of andrology 1993;16(1):1-13.
- Wiesenfeld HC, Hillier SL, Krohn MA, Landers DV, Sweet RL. Bacterial vaginosis is a strong predictor of Neisseria gonorrhoeae and Chlamydia trachomatis infection. Clinical Infectious Diseases 2003;36(5):663-8.
- WHO. Global action plan to control the spread and impact of antimicrobial resistance in Neisseria gonorrhoeae. 2012.
- Kahn RH, Mosure DJ, Blank S, Kent CK, Chow JM, Boudov MR, et al. Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae prevalence and coinfection in adolescents entering selected US juvenile detention centers, 1997–2002. Sexually transmitted diseases 2005;32(4):255-9.
- Datta SD, Sternberg M, Johnson RE, Berman S, Papp JR, McQuillan G, et al. Gonorrhea and chlamydia in the United States among persons 14 to 39 years of age, 1999 to 2002. Annals of internal medicine 2007;147(2):89-96.
- Hill D, Dubey J. Toxoplasma gondii: transmission,

- diagnosis and prevention. Clinical microbiology and infection 2002;8(10):634-40.
7. Tenter AM, Heckereth AR, Weiss LM. Toxoplasma gondii: from animals to humans. International journal for parasitology 2000;30(12):1217-58.
 8. Kaňková Š, Flegr J, Calda P. The influence of latent toxoplasmosis on women's reproductive function: four cross-sectional studies. Folia parasitologica 2015;62:041.
 9. Elnifro EM, Ashshi AM, Cooper RJ, Klapper PE. Multiplex PCR: optimization and application in diagnostic virology. Clinical microbiology reviews 2000;13(4):559-70.
 10. Control CfD, Prevention. Update to CDC's Sexually transmitted diseases treatment guidelines, 2010: oral cephalosporins no longer a recommended treatment for gonococcal infections. MMWR Morbidity and mortality weekly report 2012;61(31):590.
 11. Islami-nejad Z, Safarian S. A preliminary study of the prevalence of Gonococcal genital infection in 500 non-pregnant women referring to a private and a public clinic in Kerman, Iran. Journal of Kerman University of Medical Sciences 1995;2(3):135-9.
 12. Bakhtiari A, Firoozjahi A. The prevalence of gonococcal infection in non pregnant women. Iranian Journal of Public Health 2007;36(2):64-7.
 13. Rashidi BH, Tabriz LC, Haghollahi F, Jeddi-Tehrani M, Ramezan-zadeh F, Foroushani AR, et al. Prevalence of Neisseria gonorrhoea in Fertile and Infertile Women in Tehran. Journal of Reproduction & Infertility 2009;9(4).
 14. Workowski KA, Berman S. Sexually transmitted diseases treatment guidelines 2010.
 15. Panaretto KS, Lee HM, Mitchell MR, Larkins SL, Manessis V, Buettner PG, et al. Prevalence of sexually transmitted infections in pregnant urban Aboriginal and Torres Strait Islander women in northern Australia. Australian and New Zealand Journal of Obstetrics and Gynaecology 2006;46(3):217-24.
 16. Ghadimi Z, Soleimani M, Mohseni A, MAJIDZADEH AK. Design of a PCR method for rapid detection of Neisseria Meningitidis bacterium. 2012.
 17. Mardaneh J, Hasanzadeh P, Motamedifar M, Ahmadi K, Nikkhahi F. Diagnosis of Neisseria gonorrhoeae among pregnant women by culture method and PCR on cppB gene. Iranian South Medical Journal 2013;16(5):288-95.
 18. Morency P, Dubois M, Gresenguet G, Frost E, Masse B, Deslandes S, et al. Aetiology of urethral discharge in Bangui, Central African Republic. Sexually transmitted infections 2001;77(2):125-9.
 19. Mahony J, Song X, Chong S, Faught M, Salonga T, Kapala J. Evaluation of the NucliSens Basic Kit for Detection of Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae in Genital Tract Specimens Using Nucleic Acid Sequence-Based Amplification of 16S rRNA. Journal of clinical microbiology 2001;39(4):1429-35.
 20. Hayakawa T, Mitsuya H, Kojima M, Hayase Y. [The clinical evaluation of 414 cases of male urethritis]. Nihon Hinyokika Gakkai zasshi The Japanese journal of urology 2002;93(3):450-6.
 21. Zachariah R, Harries A, Nkhoma W, Arendt V, Nchungula D, Chantulo A, et al. Behavioural characteristics, prevalence of Chlamydia trachomatis and antibiotic susceptibility of Neisseria gonorrhoeae in men with urethral discharge in Thyolo, Malawi. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene 2002;96(3):232-5.
 22. Pépin J, Sobéla F, Deslandes S, Alary M, Wegner K, Khonde N, et al. Etiology of urethral discharge in West Africa: the role of Mycoplasma genitalium and Trichomonas vaginalis. Bulletin of the World Health Organization 2001;79(2):118-26.
 23. Alzahrani AJ, Obeid OE, Hassan MI, Almulhim AA. Screening of pregnant women attending the antenatal care clinic of a tertiary hospital in eastern Saudi Arabia for Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae infections. Indian Journal of Sexually Transmitted Diseases and AIDS 2010;31(2):81.
 24. Guerina NG, Hsu H-W, Meissner HC, Maguire JH, Lynfield R, Stechenberg B, et al. Neonatal serologic screening and early treatment for congenital Toxoplasma gondii infection. New England Journal of Medicine 1994;330(26):1858-63.
 25. Bessieres M, Berrebi A, Cassaing S, Filliaux J, Cambus J, Berry A, et al. Diagnosis of congenital toxoplasmosis: prenatal and neonatal evaluation of methods used in Toulouse University Hospital and incidence of congenital toxoplasmosis. Memorias do Instituto Oswaldo Cruz. 2009;104(2):389-92.
 26. Zhou Y, Lu Y, Wang R, Song L, Shi F, Gao Q, et al. [Survey of infection of Toxoplasma gondii in infertile couples in Suzhou countryside]. Zhonghua nan ke xue= National journal of andrology 2001;8(5):350-2.
 27. Qi R, Su X, Gao X, Liang X. [Toxoplasma infection in males with sterility in Shenyang, China]. Zhonghua nan ke xue= National journal of andrology 2005;11(7):503-4.
 28. Aral AG, Elhan HA, Akarsu C. [Retrospective

- evaluation of *Toxoplasma gondii* seropositivity in fertile and infertile women]. *Mikrobiyoloji bulteni* 2011;45(1):174-80.
29. Dvorakova-Hortova K, Sidlova A, Ded L, Hladovcova D, Vieweg M, Weidner W, et al. *Toxoplasma gondii* decreases the reproductive fitness in mice. *PloS one* 2014;9(6):e96770.
30. Muvunyi CM, Dhont N, Verhelst R, Crucitti T, Reijans M, Mulders B, et al. Evaluation of a new multiplex polymerase chain reaction assay STDFinder for the simultaneous detection of 7 sexually transmitted disease pathogens. *Diagnostic microbiology and infectious disease* 2011;71(1):29-37.
31. Zhang H, Thekisoe OM, Aboge GO, Kyan H, Yamagishi J, Inoue N, et al. *Toxoplasma gondii*: sensitive and rapid detection of infection by loop-mediated isothermal amplification (LAMP) method. *Experimental parasitology* 2009;122(1):47-50.

Elnaz Faroughi¹, Kumarss Amini^{2*}

¹ Department of Microbiology,
School of Basic Sciences,
Saveh Branch, Islamic Azad
University, Saveh, Iran.

² Association Professor,
Department of Microbiology,
School of Basic Sciences, Saveh
Branch, Islamic Azad
University, Saveh, Iran

Molecular identification of *Neisseria gonorrhoeae* and *Toxoplasma gondii* isolated from infertile women with vaginal swab samples by Multiplex-PCR

Received:17 Apr 2020; Accepted:6 Jan 2021

Abstract

Background: Toxoplasma gondii and Neisseria gonorrhoeae are the rare causes of sexually transmitted infections. The aim of this study was detection of N. gonorrhoeae and T. gondii in patients with vaginal infection using Multiplex PCR.

Materials and methods: This cross sectional study was conducted in 60 infertile female patients with symptomatic vaginal infection, referring to Tehran Emam Khomeini hospital. After completing a demographic questionnaire, sixty vaginal swabs were obtained from each participant using individual sterile swabs. DNA extraction was performed according to manufacture CinnaGen kit. The multiplex polymerase chain reaction (M-PCR) was conducted based on specific primers for N. gonorrhoeae and T. gondii.

Results: Our finding indicated the frequency of infection with N. gonorrhoeae and T. gondii was 6.6% and 10%, respectively. No coinfection with N. gonorrhoeae and T. gondii was detected.

Conclusion: The Multiplex PCR is a good results for detection of N. gonorrhoeae and T. gondii in vaginal infection. The results of this study showed a relatively low frequency of N. gonorrhoeae and T. gondii in Tehran.

Key words: Vaginal samples, Toxoplasma gondii, Neisseria gonorrhoeae, Multiplex-PCR

***Corresponding Author:**

Dr. Kumarss Amini.
Department of Microbiology,
Saveh Branch, Islamic Azad
University, Saveh, Iran.

Tell: 09125454074
E-mail: dr_kumarss_amini@yahoo.com