

بررسی وجود مایکوپلازما هومینیس و اوره آپلازما اوره آلیتیکوم در مایع منی

مردان نابارور مراجعه کننده به پژوهشکده رویان در سال ۱۳۸۷

چکیده

زمینه و هدف: عفونتهای ناشی از اوره آپلازما و مایکوپلازماهای تناسلی می‌تواند تأثیرات منفی بر سلامت تناسلی مردان داشته و به ناباروری و نازایی منتهی گردد. هدف از این تحقیق، بررسی وجود مایکوپلازما هومینیس و اوره آپلازما اوره آلیتیکوم و تعیین شیوع این دو باکتری در نمونه‌های مایع منی مردان نابارور مراجعه کننده به پژوهشکده رویان بود.

روش کار: این مطالعه یک مطالعه توصیفی بود. نمونه‌های مایع منی از ۲۲۰ مرد نابارور اخذ و سریعاً به محیط کشت PPLO broth تلقیح گردیده و بلافاصله به آزمایشگاه منتقل شد. نمونه‌ها پس از فیلتراسیون با فیلترهای $0.45\mu\text{m}$ به محیطهای اختصاصی Arginine PPLO broth و Urea PPLO broth انتقال داده شدند. پس از مشاهده تغییر رنگ، کشت مجددی از این محیطها بر روی محیطهای اختصاصی PPLO agar انجام پذیرفت. تمام محیطها در دمای 37°C و در جار حاوی گاز کربنیک نگهداری شدند. تجزیه-تحلیل داده‌ها توسط آزمون‌های آماری از قبیل: ANOVA، روش Post Hoc (LSD) Test، Crosstabs، Chi-Square و استفاده از نرم افزار SPSS-16 انجام پذیرفت و در صورتی که $p < 0.05$ بود، از لحاظ آماری معنی دار تلقی شد.

یافته‌ها: از مجموع ۲۲۰ نمونه بررسی شده، ۷ مورد (۳/۲ درصد) از نمونه‌ها فقط از نظر مایکوپلازما هومینیس، ۶۱ مورد (۲۷/۷ درصد) فقط از نظر اوره آپلازما اوره آلیتیکوم و ۱۱ مورد (۵ درصد) نیز از نظر هر دو باکتری مثبت بودند. بنابراین، ۷۹ مورد (۳۵/۹ درصد) از کل نمونه‌ها حد اقل از نظر یک باکتری مثبت بودند و به طور کلی ۱۸ مورد (۸/۲ درصد) مایکوپلازما هومینیس و ۷۲ مورد (۳۲/۷ درصد) اوره آپلازما اوره آلیتیکوم از نمونه‌ها جدا شد. در بررسی پارامترهای اسپرم، pH در دو گروه "فقط اوره آپلازما اوره آلیتیکوم مثبت" و "هر دو باکتری مثبت"، نسبت به گروه "هر دو باکتری منفی"، پایینتر بود به ترتیب: $(P = 0.006)$ و $(P = 0.021)$ ، همچنین میانگین قدرت تحرک اسپرمها در گروه "هر دو باکتری مثبت" نسبت به گروه "فقط اوره آپلازما اوره آلیتیکوم مثبت"، پایینتر بود $(P = 0.022)$.

نتیجه گیری: با توجه به نتایج این تحقیق، درصد نسبتاً بالایی از مردان نابارور به این باکتریها آلوده بوده اند و با توجه به اینکه در صورت عدم تشخیص و درمان، این عفونتها می‌توانند به PID و ناباروری منجر شوند و چون سایر روش‌های تشخیصی مانند PCR پرهزینه می‌باشد، تشخیص و جداسازی این باکتریها از طریق روش کشت در مردان نابارور فاقد علایم بالینی، ضروری به نظر می‌رسد.

کلیدواژه‌ها: ۱- مایکوپلازما هومینیس ۲- اوره آپلازما اوره آلیتیکوم ۳- مردان نابارور

* دکتر نور امیرمظفری I

محمد حسین احمدی II

دکتر محمد علی صدیقی گیلانی III

دکتر بهرام کاظمی IV

فرامرز مسجدیان جزی V

تاریخ دریافت: ۸۸/۱۵/۱۴، تاریخ پذیرش: ۸۸/۸/۱۷

مقدمه

کشت معمولی را دارند. این باکتریها به همراه سایر باکتریها مانند کلامیدیا تراکوماتیس (*C. trachomatis*) جزء شایعترین عوامل ایجاد کننده اورتریت غیر گنوکوکی (Non Gonococcal Urethritis=NGU) و

مایکوپلازما هومینیس (*Mycoplasma hominis*) و اوره آپلازما اوره آلیتیکوم (*Ureaplasma urealyticum*) از کوچکترین باکتریهایی هستند که فاقد دیواره پپتیدوگلیکانی بوده و توانایی رشد در محیطهای

این مقاله خلاصه‌ای است از پایان نامه آقای محمد حسین احمدی جهت دریافت درجه کارشناسی ارشد به راهنمایی دکتر نور امیرمظفری و مشاوره آقایان دکتر محمد علی صدیقی گیلانی، دکتر بهرام کاظمی و آقای فرامرز مسجدیان جزی با حمایت دانشگاه علوم پزشکی ایران سال ۱۳۸۷.

(I) دانشیار گروه میکروب شناسی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی ایران، تهران، ایران (* مؤلف مسوول)

(II) کارشناس ارشد میکروب شناسی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی ایران، تهران، ایران

(III) دانشیار و فوق تخصص اندرولوژی، گروه ناباروری مردان، پژوهشکده رویان، تهران، ایران

(IV) دانشیار مرکز تحقیقات بیولوژی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی، تهران، ایران

(V) کارشناس ارشد میکروب شناسی، عضو هیأت علمی گروه میکروب شناسی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی ایران، تهران، ایران

اسپرما می‌گردد.^(۲۲) شواهد نشان می‌دهد که عفونت بدون علامت بالینی ناشی از اوره آپلازما اوره آلیتیکوم می‌تواند سبب سوء عملکرد غدد ضمیمه‌ای جنسی (accessory sex glands) گردد.^(۲۳) همچنین حضور این باکتری در مایع منی و یا مجرای تناسلی زنان، می‌تواند در فرایند لقاح خارج رحمی (in vitro Fertilization) سبب افت و کاهش میزان حاملگی شود.^(۲۴ و ۲۵)

مطالعات مختلف در کشورهای صنعتی، شیوع بالای کلامیدیا تراکوماتیس و مایکوپلازماهای تناسلی را در بین شرکای جنسی مرد در زوجهای نابارور اثبات کرده و نقش مهم آنها را در مواردی از ناباروری‌ها اثبات نموده است.^(۲۶ و ۲۷) هرچند که در کشورهای در حال توسعه، این جایگاه هنوز به طور کامل مشخص نشده است.^(۲۶)

مطالعات نشان می‌دهد در صورت عدم انجام برنامه‌های تشخیصی، پیشگیری و درمان مناسب، عفونتهای مایکوپلازمایی به طور مستمر باقی مانده و منجر به عواقب خطرناکی مانند بیماریهای التهابی لگن و ناباروری می‌گردند.^(۲۷) در کشور ما به دلیل ملاحظات اخلاقی، مطالعات بسیار کمی در زمینه تشخیص این باکتریها در نمونه‌های مایع منی صورت گرفته است. لذا شناسایی این باکتریها در مردان نابارور فاقد علائم بالینی از اهمیت بالایی برخوردار بوده و می‌تواند به عنوان بخش مهمی از برنامه کنترل بیماریهای منتقله از راه تماس جنسی (STD) به شمار آید. در این امر، با توجه به اینکه روش‌های تشخیصی مولکولی (مانند PCR) با آن که حساسیت بالایی دارند، اما پرهزینه بوده و امکان استفاده از آنها در همه آزمایشگاههای تشخیصی طبی میسر نیست، می‌توان از روش کشت که ارزانتر، اختصاصی تر و قابل دسترس تر می‌باشد بهره برد.^(۲۸) در این مطالعه، وجود مایکوپلازما هومینیس و اوره آپلازما اوره آلیتیکوم در نمونه‌های مایع منی مردان ناباروری که جهت درمان به پژوهشکده رویان مراجعه کرده بودند مورد تحقیق و بررسی قرار گرفت.

سایر عوارض دستگاه ادراری-تناسلی می‌باشند.^(۱) این میکروارگانیزم‌ها، بخصوص اوره آپلازما اوره آلیتیکوم با اینکه از ساکنان طبیعی مجرای ادراری مردان می‌باشند، گونه‌های بالقوه پاتوژنی هستند که نقش اتیولوژیک مهمی در عفونتهای تناسلی و هم در ناباروری مردان ایفا می‌کنند.^(۲-۵)

عفونت مجرای ادراری-تناسلی مردان، یکی از مهمترین عوامل ناباروری مردها می‌باشد.^(۱) به طوری که ۸ تا ۳۵ درصد موارد ناباروری مردان در سراسر جهان مربوط به عفونتهای مجرای ادراری-تناسلی می‌باشد.^(۶) مطالعات مختلف در کشورهای توسعه یافته نشان داده است که عفونتهای ناشی از مایکوپلازماها و اوره آپلازماهای تناسلی می‌تواند به ناباروری و نازایی منتهی شود.^(۷-۹ و ۱۰) عفونتهای ناشی از این باکتریها اغلب بدون علامت بوده که این امر می‌تواند تأثیرات منفی بر سلامت تناسلی مردان داشته باشد که شامل تأثیرات منفی بر حجم، pH، تحرک، مورفولوژی، تعداد و قابلیت حیاتی اسپرما می‌باشد.^(۱۱-۱۵)

مایکوپلازما هومینیس علاوه بر نقش آن در بیماریهای التهابی لگن، واژینوز باکتریایی و... می‌تواند با اتصال به سر، دم و بخش میانی اسپرما (جهت کسب استروئیدهای مورد نیاز خود)، سبب بی حرکت شدن آنها و حتی نفوذ به داخل اسپرما گردد.^(۱۶-۱۹) اوره آپلازما اوره آلیتیکوم از پاتوژنهای غالب مسبب بیماریهای منتقله از راه جنسی (Sexual Transmitted Disease=STD) بوده و بنابراین، مشخص کردن شیوع آن در مردان نابارور فاقد علامت بالینی از اهمیت بالایی برخوردار است.^(۲۰ و ۲۱) این باکتری می‌تواند به مقدار فراوان به اسپرم بخصوص به قسمت میانی آن متصل گردد و یک نوع سنگینی هیدرودینامیکی در اسپرم ایجاد کرده و سبب در هم پیچیدن و ایجاد لخته‌ای متشکل از اسپرما (Multisperm agglutination) شود که مجموعه این عوامل سبب از دست رفتن قدرت تحرک

روش کار

جامعه و نمونه پژوهش

این مطالعه از نوع مطالعات توصیفی بود. جامعه پژوهش شامل ۲۲۰ مرد نابارور بود که به مرکز درمان ناباروری پژوهشکده رویان مراجعه کرده و با انجام معاینات و آزمایشات خاص (از جمله اسپرموگرام)، ناباروری آنها توسط پزشک متخصص آندروولوژی اثبات شده بود و همچنین دارای شرایط زیر بودند (لازم به ذکر است که قبلاً، فرم اعلام رضایت توسط تمام بیماران دخیل در مطالعه، امضاء شده است):

۱- فاقد هرگونه علایم بالینی مربوط به عفونتهای مجاری ادراری-تناسلی و عدم دارا بودن عوارضی مانند واریکوسل (Varicocele) ۲- عدم مواجهه با مواد توکسیک و عدم مصرف آنتی بیوتیک تا یک هفته قبل از زمان نمونه گیری ۳- داشتن دوره پرهیز جنسی (abstinence duration) حد اقل به مدت ۴۸ ساعت.

نمونه گیری و انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه

نمونه‌های مایع منی از ۲۲۰ مرد نابارور در داخل ظرفهای استریل گرفته شد و سپس به داخل محیط کشت ترانسپورت (Transport PPLO broth) تلقیح شده و بلافاصله به آزمایشگاه منتقل شد. به منظور تهیه محیط کشت ترانسپورت جهت انتقال نمونه‌ها، ابتدا ۲۱ گرم از پودر تجاری PPLO broth ساخت شرکت Difco (Difco™) را در یک لیتر آب مقطر حل کرده و سپس به ازای هر ۷۰ میلی لیتر از محیط PPLO broth، ۱۰ میلی لیتر از محلول ۱۰ درصد عصاره مخمر (yeast extract) ساخت شرکت Merck آلمان اضافه شد و پس از اتوکلاو نمودن و رسیدن دمای آن به 45°C - 40°C ، ۵ میلی لیتر سرم اسب استریل و ۱ میلی لیتر پنی سیلین G (۵۰۰۰۰ U) به آن افزوده شد و pH نهایی با استفاده از HCl و NaOH (یک نرمال) روی ۷ تنظیم شد و سپس در داخل لوله‌های درپییچ دار استریل در حجم ۴ میلی لیتر توزیع گردید.

کشت و جداسازی باکتریها

پس از انتقال محیط‌های ترانسپورت به آزمایشگاه، نمونه‌ها با استفاده از سرنگهای ۵ میلی لیتری از فیلترهای سرسرنگی $0.45\mu\text{m}$ عبور داده شده و محلول فیلتر شده به داخل محیط‌های اختصاصی Arginine PPLO broth (جهت جداسازی مایکوپلاسما هومینیس) و Urea PPLO broth (جهت جداسازی اوره آپلازما اوره آلیتیکوم) تلقیح شد و پس از قرار گیری در جار شمع دار (candle jar) به منظور تامین ۷-۵ درصد CO_2 ، در داخل انکوباتور در دمای 37°C نگهداری شد.

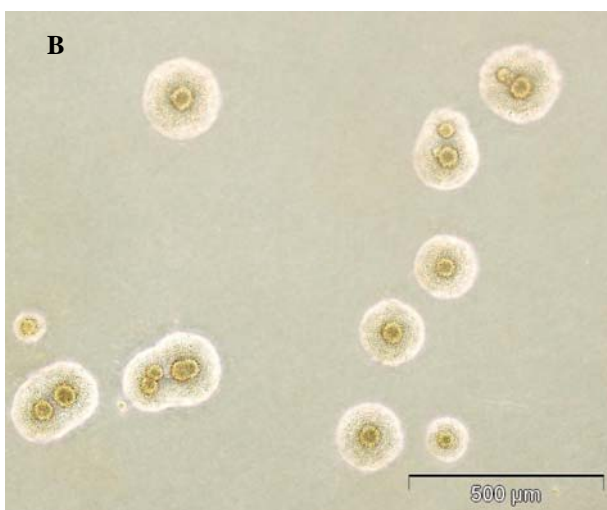
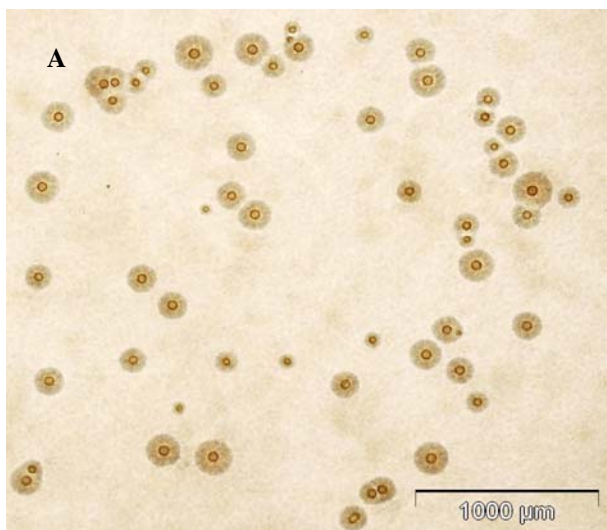
جهت تهیه محیط‌های Arginine/Urea PPLO broth، به ازای هر ۷۰ میلی لیتر از محیط پایه Difco™ PPLO Broth، مواد زیر افزوده شد:

۱۰ میلی لیتر عصاره مخمر ۱۰٪، ۱ میلی لیتر فنل رد ۲٪، ۲۰ میلی لیتر سرم اسب استریل، ۱ میلی لیتر پنی سیلین G (۵۰۰۰۰ U) و ۱۰ میلی لیتر آرژینین یا اوره ۱۰٪ که بجز عصاره مخمر، بقیه مواد فوق پس از اتوکلاو نمودن محیط کشت و رسیدن دمای آن به 45°C - 40°C در زیر هود به محیط افزوده شدند. pH نهایی برای محیط آرژینین دار بر روی ۷ و برای محیط اوره دار روی ۶-۶/۵ تنظیم گردید و سپس در داخل لوله‌های درپییچ دار استریل در حجم ۲ میلی لیتر تقسیم شد.

محیط‌های تلقیح یافته، به مدت ۵ روز در دمای 37°C و در مجاورت ۱۰-۷ درصد CO_2 نگهداری شده و در این مدت به طور روزانه از نظر تغییر رنگ مورد بررسی قرار گرفتند. در صورت مثبت بودن کشت از نظر اوره آپلازما اوره آلیتیکوم، به دلیل تجزیه آنزیمی اوره توسط این باکتری و بالارفتن pH، رنگ محیط کشت به واسطه وجود معرف فنل رد، از زرد به صورتی مایل به ارغوانی تغییر می‌یابد و در صورت مثبت بودن کشت از نظر مایکوپلاسما هومینیس، به دلیل تجزیه آنزیمی آرژینین و تولید نهایی آمونیاک، رنگ

آنالیز آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از آزمون آماری ANOVA و روش Post Hoc (LSD) Test جهت بررسی معنی دار بودن اختلاف میانگین در بین گروهها و همچنین آزمونهای آماری Crosstabs و Chi-Square به منظور بررسی متغیرهای کیفی و مقایسه درصد متغیرها توسط نرم افزار SPSS-16 انجام پذیرفت و در صورتی که $p < 0/05$ بود، از لحاظ آماری معنی دار تلقی شد.



شکل شماره ۱- کلنی‌های مایکوپلازما هومینیس بر سطح محیط کشت آرژینین آگار که از مایع منی جدا شده‌اند و در زیر میکروسکوپ فازکنتراست دیده می‌شوند. (A: $40\times$, B: $100\times$)

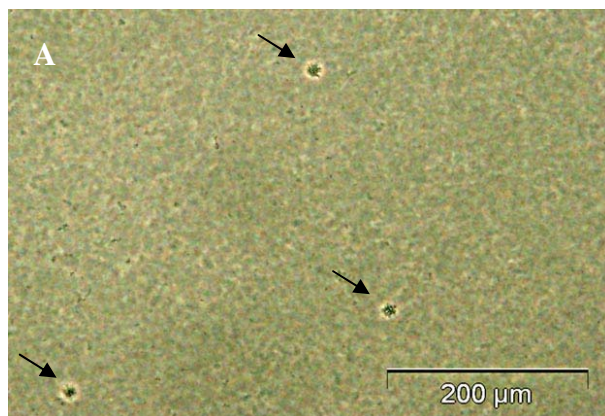
محیط کشت از نارنجی، به صورتی پررنگ مایل به ارغوانی تغییر می‌یابد. به محض مشاهده تغییر رنگ در محیطهای broth، چند قطره از این محیطها بر سطح محیطهای آگار اختصاصی کشت داده شد. محیطهای Arginine/Urea PPLO agar به این ترتیب ساخته شدند: ابتدا ۳۵ گرم از پودر PPLO agar مربوط به شرکت Difco (Difco™ PPLO Agar)، در ۱ لیتر آب مقطر حل گردید و سپس به ازای هر ۷۰ میلی لیتر از این محیط، این مواد اضافه شد: ۱۰ میلی لیتر عصاره مخمر ۱۰٪، ۲۰ میلی لیتر سرم اسب استریل، ۱ میلی لیتر پنی سیلین G (۵۰۰۰۰ U) و ۱۰ میلی لیتر آرژینین یا اوره ۱۰٪ که بجز عصاره مخمر، بقیه مواد فوق پس از اتوکلاو نمودن محیط کشت و رسیدن دمای آن به 45°C در شرایط استریل در زیر هود بیولوژیک به محیط افزوده شدند. pH نهایی برای محیط آگار آرژینین دار بر روی ۷ و برای محیط آگار اوره دار روی ۶-۶/۵ تنظیم گردید و سپس در داخل پلیت‌های استریل ریخته شد.

پس از تلقیح محیطهای مایع تغییر رنگ یافته به سطح محیطهای آگار، پلیت‌ها در داخل candle jar و در دمای 37°C به مدت ۵ تا ۷ روز نگهداری شدند و در طی این مدت، پلیت‌ها از نظر وجود کلنی در زیر میکروسکوپ (با عدسی‌های شیئی $4\times$ ، $10\times$ و $40\times$) مورد بررسی قرار گرفتند. کلنی‌های مایکوپلازما هومینیس در سطح محیط جامد ظاهری شبیه به تخم مرغ نیمرو شده (fried egg) دارند که برای مشاهده آنها اغلب به میکروسکوپ نیاز است (شکل شماره ۱).^(۲۹) در حالی که کلنی‌های اوره آپلازما اوره آلیتیکوم بسیار ریز و به شکل توت بوده که به منظور مشاهده بهتر آنها، از رنگ آمیزی اختصاصی کلرور منگنز-اوره استفاده شد. در این حالت، کلنی‌های این باکتری در زیر میکروسکوپ به رنگ قهوه‌ای تیره (مایل به سیاه) دیده شدند (شکل شماره ۲).^(۳۰)

درصد با میانگین ۱۶/۲۶ درصد بود و ۶۳ مورد (۲۸/۶ درصد) از نمونه‌ها دارای قدرت تحرک برابر با صفر (فاقد قدرت تحرک) بودند. میزان مورفولوژی نرمال در نمونه‌ها، صفر تا ۳۵ درصد با میانگین ۴/۵۸ درصد بود و ۵۴ مورد (۲۴/۵ درصد) آنها دارای مورفولوژی نرمال برابر با صفر درصد (فاقد مورفولوژی طبیعی) بودند. تعداد اسپرم در هر میلی لیتر مایع منی در نمونه‌ها، صفر تا ۱۴۰ میلیون و میانگین آن ۱۶/۶۳ میلیون بود. میزان pH در نمونه‌ها، ۶ تا ۸/۱ با میانگین ۷/۷۵ بود و ۱۳۹ مورد (۶۳/۲ درصد) از نمونه‌ها دارای pH برابر با ۷/۸ بودند. میزان حجم مایع منی در نمونه‌ها، ۱/۵ تا ۱۲ میلی لیتر با میانگین ۴/۰۷ میلی لیتر بود. دوره پرهیز جنسی در افراد مورد مطالعه از ۲ تا ۲۰ روز با میانگین ۵/۰۸ روز بود. ۷۶/۸ درصد از نمونه‌ها دارای چسبندگی طبیعی (normal viscosity)، ۱۵/۵ درصد somewhat thick (نسبتاً غلیظ) و ۷/۷ درصد ویسکوزیته از نوع thick (غلیظ) داشتند. ۴۶ مورد (۲۰/۹ درصد) از نمونه‌ها، شمارش اسپرم برابر با صفر داشتند (فاقد اسپرم در مایع منی) که این عارضه تحت عنوان آزوسپرمیا (azoospermia) شناخته می‌شود. حداقل و حداکثر سن افراد مورد مطالعه به ترتیب ۲۳ و ۵۴ سال و میانگین آن ۳۵/۲۳ سال بود.

نتایج حاصل از کشت به چهار گروه تقسیم شد که عبارت بودند از: گروه (۱): هردو باکتری منفی. گروه (۲): فقط مایکوپلازما هومینیس مثبت. گروه (۳): فقط اوره آپلازما اوره آلیتیکوم مثبت و گروه (۴): هردو باکتری مثبت.

جهت بررسی اختلاف میانگین متغیرها در این چهار گروه، از تست ANOVA (آنالیز واریانس) استفاده شد که نتایج نشان داد که فقط در مورد متغیر pH، رابطه معنادار بود (P-value = ۰/۰۱۳). در حالی که در مورد سایر متغیرها رابطه معناداری مشاهده نشد. سپس از آزمون تعقیبی Post Hoc (LSD Test) جهت مقایسه اختلاف میانگین در بین گروهها به صورت دو به دو باهم



شکل شماره ۲- کلنی‌های اوره آپلازما اوره آلیتیکوم بر سطح محیط کشت اوره آگار که از مایع منی جدا شده اند و در زیر میکروسکوپ فازکنتراست دیده می‌شوند. کلونی‌ها با نوک پیکان مشخص شده اند. (B: ۴۰۰X, A: ۲۰۰X)

یافته‌ها

از مجموع ۲۲۰ نمونه مایع منی بررسی شده، ۷ مورد (۳/۲ درصد) از نمونه‌ها فقط از نظر مایکوپلازما هومینیس، ۶۱ مورد (۲۷/۷ درصد) فقط از نظر اوره آپلازما اوره آلیتیکوم و ۱۱ مورد (۵ درصد) نیز از نظر هردو باکتری مثبت بودند. بنابر این، ۷۹ مورد (۳۵/۹ درصد) از کل نمونه‌ها حد اقل از نظر یک باکتری مثبت بودند و به طور کلی ۱۸ مورد (۸/۲ درصد) مایکوپلازما هومینیس و ۷۲ مورد (۳۲/۷ درصد) اوره آپلازما اوره آلیتیکوم از نمونه‌ها جدا شد. ۱۴۱ نمونه (۶۴/۱ درصد) نیز از لحاظ هردو باکتری منفی بودند. در بررسی پارامترهای اسپرم در نمونه‌ها، به طور کلی نتایج زیر به دست آمد: میزان قدرت تحرک اسپرم در نمونه‌ها، صفر تا ۴۰

استفاده شد که نتایج، اختلاف معناداری را در متغیر pH در بین دو گروه (۱) و (۳) نشان داد ($P=0/031$). همچنین اختلاف معناداری در این متغیر در بین دو گروه (۱) و (۴) مشاهده گردید ($P=0/006$) و این بدین معنی است که در دو گروه "فقط اوره آپلازما اوره آلیتیکوم مثبت" و گروه "هر دو باکتری مثبت"، میانگین pH نسبت به گروه "هر دو باکتری منفی"، پایینتر بوده و اسیدی تر است. میانگین قدرت تحرک اسپرما (total motility) در گروه "هر دو باکتری مثبت" نسبت به گروه "فقط اوره آپلازما اوره آلیتیکوم مثبت"، پایینتر بود ($P=0/032$). در حالی که در بین سایر گروهها اختلاف معناداری از این نظر وجود نداشت.

جهت بررسی متغیرهای کیفی از آزمون Crosstabs استفاده شد که در آن، نتیجه کشت با هر کدام از سه

متغیر گروه سنی، ویسکوزیته و آروسپریمیا مورد بررسی قرار گرفت که وقتی از آزمون Chi-Square (χ^2) استفاده شد، اختلاف معناداری در بین هیچکدام از این موارد مشاهده نشد. نتایج حاصل از این بررسیها در جداول شماره (۱)، (۲) و (۳) آمده است.

در تحقیق ما هیچ گونه ارتباط معنی داری بین وجود لکوسیتها در مایع منی (leukocytospermia) و نتیجه حاصل از کشت یافت نشد. همچنین برای بررسی بیشتر، نتیجه کشت به دو گروه الف): "هر دو باکتری منفی" و گروه ب): "حداقل یک باکتری مثبت" تقسیم شد که پس از استفاده از آزمونهای فوق جهت مقایسه این دو گروه، در این مورد نیز اختلاف معنی داری در پارامترها و متغیرهای ذکر شده مشاهده نگردید (جدول شماره ۴).

جدول شماره ۱- توزیع نتایج کشت بر حسب گروه سنی

نتایج کشت	تعداد و درصد موارد بر حسب گروه سنی				تعداد و درصد کل بر حسب هر گروه
	سال ۲۳-۳۳	سال ۳۴-۴۳	سال ۴۴-۵۳	بالاتر از ۵۳ سال	
گروه (۱): هر دو باکتری منفی	۶۳ ٪۴۴/۷	۷۱ ٪۵۰/۴	۶ ٪۴/۳	۱ ٪۰/۷	۱۴۱ ٪۱۰۰/۰
گروه (۲): فقط مایکوپلازما هومینیس مثبت	۳ ٪۴۲/۹	۴ ٪۵۷/۱	۰ ٪۰	۰ ٪۰/۰	۷ ٪۱۰۰/۰
گروه (۳): فقط اوره آپلازما اوره آلیتیکوم مثبت	۱۹ ٪۳۱/۱	۳۷ ٪۶۰/۷	۵ ٪۸/۲	۰ ٪۰/۰	۶۱ ٪۱۰۰/۰
گروه (۴): هر دو باکتری مثبت	۳ ٪۲۷/۳	۷ ٪۶۳/۶	۱ ٪۹/۱	۰ ٪۰/۰	۱۱ ٪۱۰۰/۰
تعداد و درصد از کل نمونه ها	۸۸ ٪۴۰/۰	۱۱۹ ٪۵۴/۱	۱۲ ٪۵/۵	۱ ٪۰/۵	۲۲۰ ٪۱۰۰/۰

جدول شماره ۲- توزیع نتایج کشت بر حسب نوع چسبندگی (viscosity) مایع منی

نتایج کشت	نوع چسبندگی			تعداد و درصد کل بر حسب هر گروه
	طبیعی	نسبتاً غلیظ	غلیظ	
گروه (۱): هر دو باکتری منفی	۱۰۵ ٪۷۴/۵	۲۲ ٪۱۵/۶	۱۴ ٪۹/۹	۱۴۱ ٪۱۰۰/۰
گروه (۲): فقط مایکوپلازما هومینیس مثبت	۵ ٪۷۱/۴	۲ ٪۲۸/۶	۰ ٪۰/۰	۷ ٪۱۰۰/۰
گروه (۳): فقط اوره آپلازما اوره آلیتیکوم مثبت	۵۰ ٪۸۲/۰	۹ ٪۱۴/۸	۲ ٪۳/۳	۶۱ ٪۱۰۰/۰
گروه (۴): هر دو باکتری مثبت	۹ ٪۸۱/۸	۱ ٪۹/۱	۱ ٪۹/۱	۱۱ ٪۱۰۰/۰
تعداد و درصد از کل نمونه ها	۱۶۹ ٪۷۶/۸	۳۴ ٪۱۵/۵	۱۷ ٪۷/۷	۲۲۰ ٪۱۰۰/۰

دارد.^(۳۲) در این میان، یکی از مهمترین عوامل ناباروری مردان، عفونتهای مجرای ادراری-تناسلی می باشد.^(۶) در مورد شیوع مایکوپلازماهای تناسلی، گزارشات و آمارهای متفاوتی وجود دارد. به طوری که شیوع اوره آپلازما اوره آلیتیکوم در نمونه های مایع منی مردان نابارور در مقالات مختلف از ۵ تا ۴۲ درصد متغیر است.^(۳۴-۳۳ و ۳۴) این محدوده وسیع مربوط به روش ها و تستهای تشخیصی متفاوتی است که جهت بررسی جمعیت های مختلف به کار رفته است.^(۳۵) در تحقیق حاضر، شیوع اوره آپلازما اوره آلیتیکوم در مایع منی مردان نابارور، ۳۲/۷ درصد به دست آمد که در محدوده گزارش شده مقالات فوق قرار دارد.

در مطالعه ای که توسط Gdoura و همکارانش در کشور تونس با استفاده از روش PCR بر روی مردان نابارور انجام یافت، شیوع مایکوپلازما هومینیس ۹/۶ درصد و اوره آپلازما اوره آلیتیکوم ۱۵/۴ درصد گزارش شد.^(۳۶) در مطالعه ما، شیوع مایکوپلازما هومینیس ۸/۲ درصد بود که نزدیک به یافته مقاله فوق است و شیوع اوره آپلازما اوره آلیتیکوم ۳۲/۷ درصد بود که در مقایسه با مطالعه فوق، بالاتر است. در مطالعه دیگری از Gdoura و همکارانش، در ۶/۷ درصد از نمونه ها عفونت توأم این دو باکتری مشاهده شده است و این در حالی است که عفونت توأم این دو باکتری در مطالعه ما در ۵ درصد از نمونه ها یافت شد که نزدیک به یافته مطالعه فوق می باشد. وجود عفونت توأم با این دو باکتری در مقالات مختلف، در ۷ تا ۱۴ درصد از نمونه های مایع منی مردان نابارور گزارش شده است که یافته های ما پایینتر از این محدوده قرار دارد.^(۳۵ و ۳۳، ۳۴)

در تحقیقی که Wang و همکاران در کشور چین انجام دادند، شیوع اوره آپلازما اوره آلیتیکوم را با استفاده از روش کشت، ۳۹/۳۱ درصد گزارش کردند که در مقایسه با یافته ما (۳۲/۷ درصد)، مقداری بالاتر است.^(۵)

جدول شماره ۳- توزیع نتایج کشت بر حسب وجود یا عدم وجود عارضه آروسپریمیا (فقدان اسپرم در مایع منی)

نتایج کشت	آروسپریمیا		تعداد و در صد کل بر حسب هر گروه
	ندارد	دارد	
گروه (۱): هردو باکتری منفی	۱۱۱	۳۰	۱۴۱ ٪۱۰۰/۰
گروه (۲): فقط مایکوپلازما هومینیس مثبت	۴	۳	۷ ٪۱۰۰/۰
گروه (۳): فقط اوره آپلازما اوره آلیتیکوم مثبت	۵۰	۱۱	۶۱ ٪۱۰۰/۰
گروه (۴): هردو باکتری مثبت	۹	۲	۱۱ ٪۱۰۰/۰
تعداد و در صد از کل نمونه ها	۱۷۴	۴۶	۲۲۰ ٪۱۰۰/۰

جدول شماره ۴- مقایسه نتایج اسپرموگرام ۲۲۰ مرد نابارور در دو گروه "هر دو باکتری منفی" و "حد اقل یک باکتری مثبت"

متغیرها	هر دو باکتری منفی	
	حد اقل یک باکتری مثبت	حد اقل یک باکتری منفی
سن	۳۵/۴۹ ± ۰/۵۹	۳۵/۰۸ ± ۰/۴۷
حجم مایع منی (ml)	۴/۰۳ ± ۰/۱۶	۴/۰۹ ± ۰/۱۳
pH مایع منی	۷/۷۰ ± ۰/۰۳	۷/۷۷ ± ۰/۰۰
تعداد اسپرم (۱×۱۰ ^۶ /ml)	۱۷/۴۱ ± ۳/۲۰	۱۶/۱۹ ± ۲/۱۵
تحرك اسپرم (%)	۱۵/۹۲ ± ۱/۵۲	۱۶/۴۵ ± ۱/۰۹
مورفولوژی طبیعی اسپرم (%)	۴/۸۷ ± ۰/۶۰	۴/۸۵ ± ۰/۴۸

بحث و نتیجه گیری

طبق تعریف، ناباروری عبارت است از عدم ایجاد حاملگی با وجود یک سال نزدیکی جنسی بدون استفاده از هر گونه وسیله ممانعت از بارداری.^(۳۱) گفته می شود ۵۰ تا ۸۰ میلیون زوج در سراسر جهان از ناباروری رنج می برند. به نظر می رسد که فاکتورهای مردانه، علت اصلی ناباروری در ۳۰ درصد از موارد بوده و در ۲۰ درصد موارد نیز در ایجاد ناباروری نقش مشارکتی

حضور این باکتریها در مایع منی و ایجاد تغییرات در پارامترهای اسپرم، نیافته اند.^(۴۵، ۴۶ و ۴۷) در مورد آلودگی مایع منی با مایکوپلازما هومینیس، در برخی از مطالعات تأثیراتی بر روی تعداد، مورفولوژی و قدرت تحرک اسپرمها گزارش شده است.^(۱۸ و ۳۰) همچنین مطالعات آزمایشگاهی (*in vitro*) نشان می‌دهد که نگهداری اسپرمها همراه با کلامیدیاها یا مایکوپلازماها، می‌تواند باعث آسیب رساندن به فیزیولوژی اسپرمها و بخصوص سبب تأثیرات منفی بر روی قدرت تحرک، مورفولوژی و قابلیت حیاتی آنها گردد.^(۴۷، ۱۹ و ۴۸)

در تحقیق حاضر به دلیل ملاحظات اخلاقی، مقذور نبود که از مردان سالم و بارور نیز نمونه‌های مایع منی اخذ شود و با استفاده از گروه کنترل، مطالعه به صورت case/control درآید و بنابر این، نمی‌توان صرفاً وجود این باکتریها را دلیل اصلی ناباروری در افراد مورد مطالعه دانست و با تکیه بر آن، تأثیر این باکتریها را بر پارامترهای اسپرم سنجید. اما در مقایسه میانگین متغیرهای این مطالعه، در متغیر pH یک اختلاف معنی دار یافت شد. به این معنی که در دو گروه "هردو" باکتری مثبت و "فقط اوره آپلازما اوره آلیتیکوم مثبت"، میزان pH نسبت به گروه "هردو باکتری منفی"، پایبندتر و اسیدی تر بود (به ترتیب، $p=0/006$ و $p=0/031$). در مطالعه ای که توسط Wang و همکارانش در کشور چین انجام شد، در افراد آلوده، میزان pH نسبت به افراد منفی پایبندتر بود ($p<0/05$). که از این لحاظ تا حدی با یافته تحقیق حاضر، مشابهت دارد.^(۵)

در مطالعه حاضر، بین محدوده سنی افراد مورد مطالعه و نتیجه حاصل از کشت، ارتباط معنی داری یافت نشد. اما افراد با محدوده سنی ۲۴ تا ۴۳ سال نسبت به سایر گروههای سنی، آلودگی بیشتری به این باکتریها داشتند. نتایج مطالعه گلشنی و همکارانش، بالاترین میزان آلودگی را در بین افراد دارای محدوده سنی ۲۰ تا ۳۰ سال نشان می‌دهد.^(۳۶)

در مطالعه ای که در ایران (تهران) توسط گلشنی و همکاران انجام شد، از روش PCR جهت بررسی سه باکتری کلامیدیا تراکوماتیس، مایکوپلازما هومینیس و اوره آپلازما اوره آلیتیکوم در نمونه‌های مایع منی مردان نابارور استفاده شد که در آن، ۳۳ درصد از نمونه‌ها حداقل به یکی از این باکتریها آلوده بود.^(۳۶) در تحقیق ما این آمار برابر با ۳۵/۹ درصد بود که مشابه مطالعه فوق می‌باشد. در تحقیق دیگری که توسط دکتر نیاکان و همکاران در پژوهشکده رویان بر روی نمونه‌های مایع منی انجام شد، فراوانی مایکوپلازما هومینیس در مردان نابارور ۱۷/۵ درصد در مقایسه با گروه کنترل (۵ درصد) تعیین شد که نسبت به یافته به دست آمده در تحقیق حاضر (۸/۲ درصد)، میزان بالاتری را نشان می‌دهد.^(۳۷) البته در تحقیق فوق، تعداد افراد مورد بررسی محدود بود (۴۰ مرد نابارور و ۴۰ نفر مرد بارور) و بنابر این احتمالاً نمی‌تواند آمار صحیحی از شیوع این میکروارگانیسمها را در بر داشته باشد.

در سایر مطالعات، شیوع مایکوپلازما هومینیس و اوره آپلازما اوره آلیتیکوم به ترتیب ۱۳-۵ درصد و ۳۵-۱۱ درصد گزارش شده است که یافته‌های ما نیز در همین محدوده قرار دارد.^(۳۴-۴۲ و ۳۸) شاید علت متغیر بودن شیوع این دو باکتری در مقالات مختلف، به دلیل روش‌های تشخیصی متفاوت، نمونه‌های مختلف و کار بر روی جمعیت‌های ناهمسان بوده باشد.

در مورد تأثیر مایکوپلازماهای تناسلی بر پارامترهای اسپرم، نقش آنها در ایجاد تغییرات آندرولوژی مایع منی و ایجاد ناباروری در مردان، دیدگاه‌های متفاوت و متناقضی وجود دارد.^(۴۳، ۳۳ و ۴۴) به عنوان مثال، برخی گزارشات حاکی از آن است که حضور مایکوپلازماها و اوره آپلازماها در مایع منی، می‌تواند سبب ایجاد تأثیرات منفی بر حجم، pH، تحرک، مورفولوژی، تعداد و قابلیت حیاتی اسپرمها گردد.^(۱۰-۱۱) در حالی که برخی از محققان هیچ گونه ارتباطی را بین

در صورت عدم تشخیص و درمان، به طور مستمر باقی مانده و می‌تواند منجر به عواقب خطرناکی مانند بیماریهای التهابی لگن و ناباروری گردد. لذا غربالگری میکروبی برای مردان نابارور بخصوص در سنین جوانی، ضروری به نظر می‌رسد. همچنین با توجه به اینکه در برخی از کلینیک‌ها، بررسی‌های میکروبی صرفاً بر روی نمونه‌هایی انجام می‌پذیرد که دارای لکوسیت بالا باشند و این در حالی است که مطالعات نشان می‌دهد که وجود لکوسیت در مایع منی، شاخص قابل اعتمادی برای پیش بینی عفونت‌های مایکوپلازمایی نمی‌باشد. لذا لازم است که غربالگری‌های میکروبی برای همه مردان نابارور به عنوان تست روتین در حضور یا غیاب لکوسیت‌ها در مایع منی، انجام پذیرد و در صورت آلوده بودن به این باکتریها، درمان زوجین به صورت همزمان صورت گیرد. در این امر، می‌توان از روش کشت که روشی ارزاتر و اختصاصی تر می‌باشد، بهره برد. در ضمن، آگاهی دادن به مردم بخصوص جوانان، در باره عفونت‌های ادراری-تناسلی و راههای حفاظت از سلامت جنسی اجتناب ناپذیر بوده و می‌تواند به عنوان بخش مهمی از برنامه "کنترل بیماریهای منتقله از راه تماس جنسی" به شمار آید.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله نهایت تشکر و قدردانی خود را از مسئولین محترم پژوهشکده رویان، بخصوص معاونت پژوهشی و همچنین کارکنان آزمایشگاه روتین آن پژوهشکده که ما را در راه انجام این تحقیق یاری دادند اعلام می‌داریم.

در تحقیق حاضر هیچ گونه ارتباط معنی داری بین وجود لکوسیت‌ها در مایع منی (leukocytospermia) و نتیجه حاصل از کشت یافت نشد. نتایج حاصل از سایر مطالعات نیز نشان می‌دهد که وجود لکوسیت در مایع منی، شاخص قابل اعتمادی برای پیش بینی عفونت‌های مایکوپلازمایی نمی‌باشد. (۵۰،۳۶،۴۹)

Xu و همکارانش گزارش کرده اند که عفونت تناسلی با اوره آپلازما اوره آلیتیکوم سبب کاهش قدرت تحرک اسپرم می‌شود.^(۵۱) در مطالعه حاضر، یک ارتباط معنی داری در مورد قدرت تحرک اسپرم، فقط در بین دو گروه "فقط اوره آپلازما اوره آلیتیکوم مثبت" و گروه "هر دو باکتری مثبت" یافت شد ($p=0/032$). به این معنی که میانگین قدرت تحرک اسپرم در گروه "هر دو باکتری مثبت" پایین تر بود.

علت گزارشات متناقض در مورد تأثیرات مایکوپلازما‌های تناسلی بر پارامترهای اسپرم، می‌تواند به واسطه عواملی همچون نحوه انتخاب بیماران، تعداد نمونه‌های مورد مطالعه، استفاده از روش‌های تشخیصی متفاوت، تفاوت در توزیع جغرافیایی جمعیت‌ها، میزان و شدت کلونیزاسیون باکتری در مجاری ادراری-تناسلی و دخالت فاکتورهای ژنتیکی باشد.

با توجه به یافته‌های این تحقیق، درصد نسبتاً بالایی از مردان نابارور به این دو باکتری آلوده اند. چنانکه اشاره شد، حضور مایکوپلازماها و اوره آپلازماها در مجاری ادراری-تناسلی، اغلب بدون علامت بالینی می‌باشد و با نظر به اینکه عفونت‌های تناسلی ناشی از این باکتریها

فهرست منابع

1. Kilic D, Basar M, Kaygusuz S, Yilmaz E, Basar H, Batislam E. Prevalence and Treatment of Chlamydia trachomatis, Ureaplasma urealyticum, and Mycoplasma hominis in Patients with Non-Gonococcal Urethritis. Jpn.J.Infect.Dis. 2004; 57: 17-20

2. Upadhyaya M, Hibbard BM, Walker SM. The effect of Ureaplasma urealyticum on semen characteristics. Fertil Steril. 1984; 41: 304-8

3. De Jong Z, Pontonnier F, Plante P, Perie N,

Talazac N, Mansat A, et al. Comparison of the incidence of *Ureaplasma urealyticum* in infertile men and in donors of semen. *Eur Urol*. 1990; 18: 127-31

4. Andrade-Rocha FT. *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis* in men attending for routine semen analysis. Prevalence, incidence by age and clinical settings, influence on sperm characteristics, relationship with the leukocyte count and clinical value. *Urol Int*. 2003; 71: 377-81

5. Wang Y, Liang CL, Wu JQ, Xu C, Qin SX, Gao ES. Do *Ureaplasma urealyticum* infections in the genital tract affect semen quality? *Asian J Androl*. 2006; 8: 562-68

6. Keck C, Gerber-Schafer C, Clad A, Wilhelm C, Breckwoldf M. Seminal tract infections: Impact on male fertility and treatment options. *Hum Reprod Update*. 1998; 4(6): 891-903

7. Askienazy-Elbhar M. Male genital tract infection: the point of view of the bacteriologist. *Gynecol Obstet Fertil*. 2005; 33: 691-97

8. Paavonen J and Wolner-Hassen P. *Chlamydia trachomatis* a major threat to reproduction. *Hum Reprod*. 1989; 4: 111-24

9. Vigil P, Morales P, Tapia A, Riquelme R, Salgado AM. *Chlamydia trachomatis* infection in male partners of infertile couples: incidence and sperm function. *Andrologia*. 2002; 34: 155-61

10. Winn Jr, Allen S, W Janda, Koneman E, Procop G, Schreckenrger P, et al.. *Mycoplasmas and Ureaplasma*. In: Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. Lippincott Williams & Wilkins, 6th ed. Wolters Kluwer Company, USA, 2006. p. 1028-33

11. Rose BI, Scott B. Sperm motility, morphology, hyperactivation and ionophore- induced acrosome reactions after overnight incubation with *Mycoplasmas*. *Fertil Steril*. 1994; 61(2): 341-46

12. Jakiel G, Robak CD, Wiczorek P, Bokinić M . Evaluation of some parameters of human semen with positive chlamydial reaction. *Ann Univ Mariae Curie Skłodowska*. 2004; 5(92): 644

13. Veznik Z, Pospisil L, Svecova D, Zajicova A, Unzeitig V. *Chlamydiae* in the ejaculate: their influence on the quality and morphology of sperm. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2004; 83(7): 656-60

14. Wang Y, Han XD, Hou YY, Chen JX . *Ureaplasma urealyticum* infection related to seminal plasma immunosuppressive factors, semen pH and

liquefaction duration. *Arch Androl*. 2005; 51(4): 267-70

15. Lu MG, Shi JL, Xu C. Establishment and application of the approach to detecting two biovars of *Ureaplasma urealyticum* in human semen. *Zhonghua Nan Ke Xue*. 2005; 11(3): 175-78,184

16. Yoshida T, Maeda S, Deguchi T, Miyazawa T, Ishiko H. Rapid detection of *Mycoplasma genitalium*, by PCR-microtiter plate hybridization assay. *J Clin Microbiol*. 2003; 41: 1850-855

17. Soffer, Y, Ron-El R, Golan, A, Herman, A, Caspi, E, Samra Z. Male genital mycoplasmas and *Chlamydia trachomatis* culture: its relationship with accessory gland function, sperm quality, and autoimmunity. *Fertil Steril*. 1990; 53: 331-36

18. Svenstrup HF, Fedder J, Abraham-Peskir J, Birkelund S, Christiansen G. *Mycoplasma genitalium* attaches to human spermatozoa. *Human Reproduction*. 2003; 18(10): 2103-109

19. Diaz-Garcia FJ, Herrera-Mendoza AP, Gionocerezo S, Guerra-Infante FM. *Mycoplasma hominis* attaches to and locates intracellularly in human spermatozoa. *Human Reproduction*. 2006; 21(6): 1591-598

20. Gerbase AC, Rowley JT, Heymann DH, Berkley SF, Piot P. Global prevalence and incidence estimates of selected curable STDs. *Sex Transm Infect*. 1998; 74: 12-16

21. Gonzales GF, Munoz G, Sanchez R, Henkel R, Gallegos-Avila G, Diaz-Gutierrez O, et al. Update on the impact of *Chlamydia trachomatis* infection on male fertility. *Andrologia*. 2004; 36: 1-23

22. O'Leary WM. *Ureaplasmas* and human disease. Critical review of microbiology. 1990; 17(3): 161-68

23. Purvis K, Christiansen E. Infection in the male reproductive tract. Impact, diagnosis and treatment in relation to male infertility. *Int J Androl*. 1993; 16: 1-13

24. Montagut JM, Lepretre S, Degoy J, Rousseau M. *Ureaplasma* in semen and IVF. *Hum Reprod*. 1991; 6: 727-29

25. Reichart M, Kahane I, Bartoov B. In vivo and in vitro impairment of human and ram sperm nuclear chromatin integrity by sexually transmitted *ureaplasma urealyticum*. *Infect Biol Reprod*. 2000; 63:1041-48

26. Gdoura R, Kchaou W, Ammar KL, Chacroun 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

27. Dhawan B, Gupta V, Khanna N, Singh M, Chaudhry R. Evaluation of the Diagnostic Efficacy of PCR for *Ureaplasma urealyticum* Infection in Indian Adults with Symptoms of Genital Discharge. *Jpn. J. Infect. Dis.* 2006; 59: 57-58

28. Stellrecht KA, Woron AM, Mishrik NG, Venezia RA. Comparison of Multiplex PCR Assay with Culture for Detection of Genital Mycoplasmas. *Journal of Clinical Microbiology.* 2004; 42(4): 1528-533

29. Neyrolles O, Eliane JP, Ferri S, Da-cunda RA, Prevost MC, Blanchard A. Antigenic characterization and cytolocalization of P35, the major *Mycoplasma penetrans* antigen. *Microbiology.* 1999; 145: 343-55

30. Colle JG, Duguid JP, Fraser AG, Marmion BP. Mackie and McCartney Practical Medical Microbiology. 13th ed. UK : Churchill Livingstone, 1989. p. 300-311

31. Coskun E, Ozkan S, Vural B. Impact of Genital Infections on Fertility. *J Turkish German Gynecol Assoc.* 2005; 6(3): 197-203

32. Amelar RD, Dubin I, Walsh PC. Male infertility. 1st ed. Philadelphia: WB Saunders Company, 1977. p. 258

33. Knox CL, Allan JA, Allan JM, Edirisinghe WR, Stenze DL, Lawrence FL, et al. *Ureaplasma parvum* and *Ureaplasma urealyticum* are detected in semen after washing before assisted reproductive technology procedures. *Fertil Steril.* 2003; 80: 921-29

34. Rosemond A, Lanotte P, Watt S, Sauget AS, Guerif F, Royere D, et al. Systematic screening tests for *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* in urogenital specimens of infertile couples. *Pathol Biol.* 2006; 54(3): 125-29

35. 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 Infectious Diseases.* 2007; 7: 129

36. Golshani M, Eslami G, Mohammadzadeh 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): 50-57

37. Niakan M, Forootan SK, Fallah N, Shafiei M,

Sedighi MA, Nejad Moghaddam MR, et al. Detection of the frequency of *M. Hominis* in infertile men in comparison with control group. *Daneshvar.* 2005; 56(12): 65-72 (Persian)

38. Bornman MS, Mahomed MF, Boomker D, Schlenburg GW, Reif S, et al. Microbial flora in semen of infertile African men at Garankuwa hospital. *Andrologia.* 1990; 22(2): 118-21

39. Kjaergaard N, Kristensen B, Hansen ES, Farholt S, Schonheyder HC, Uldbjerg N, et al. Microbiology of semen specimens from males attending a fertility clinic. *APMIS.* 1990; 105(7): 566-70

40. Rodriguez R, Hernandez R, Fuster F, Torres A, Prieto P, Alberto J. Genital infection and infertility. *Enferm Infecc Microbiol Clin,* 2001; 19(6): 261-66

41. Pacey AA, Eley A. *Chlamydia trachomatis* and male fertility. *Hum Fertil (Camb).* 2004; 7(4): 271-76

42. Samra Z, Soffer Y, Pansky M. Prevalence of genital chlamydia and mycoplasma infection in couples attending a male infertility clinic. *Eur J Epidemiol.* 1994; 10(1): 69-73

43. Potts JM, Sharma R, Pasqualotto F, Nelson D, Hall G, Agarwal A. Association of *Ureaplasma urealyticum* with abnormal reactive oxygen species levels and absence of leukocytospermia. *J Urol.* 2000; 163:1775-778

44. Sanocka-Maciejewska D, Ciupinska M, Kurpisz M. Bacterial infection and semen quality. *J Reprod Immunol.* 2005; 67: 51-56

45. Bornman MS, Mahomed MF, Boomker D, Schlenburg GW, Reif S, Crewe-Brown H. Microbial flora in semen of infertile African men at Garankuwa hospital. *Andrologia.* 1990; 22:118-21

46. Ochsendorf FR, Ozdemir K, Rabennou H, Fenner T, Oremek R, Milbradt R, et al. *Chlamydia trachomatis* and male infertility: *Chlamydia- IgA* antibodies in seminal plasma are *C. Trachomatis* specific and associated with an inflammatory response. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 1999; 12(2): 143-52

47. Nunez- Calonge R, Caballero P, Redondo C, Baquero F, Martin- Ferrer M, Meseguer MA.

Ureaplasma urealyticum reduces motility and induces membrane airtation in human spermatozoa. *Hum Reprod.* 1998; 13(10): 2756-761

48. Eley A, Pacey AA, Galdiero M, Galdiero M, Galdiero F. Can *Chlamydia trachomatis* directly damage your sperm? *Lancet Infect Dis.* 2005; 5(1): 53-57

49. Solis EA, Gatti VN, Bouvet BR, Brufman AS, Catalina Provenzal O, Feldman R. Round cells in semen and genital infections. Arch Esp Urol. 2000; 53(2): 101-5

50. Trum JW, Mol BW, Pannekoek Y, Spanjaard L, Wertheim P, Bleker OP, et al. Value of detecting

leukocytespermia in the diagnosis of genital tract infection in subfertile men. Fertil Steril. 2000; 70(2): 315-19

51. Xu C, Sun GF, Zhu YF, Wang YF. The correlation of Ureaplasma urealyticum infection with infertility. Andrologia. 1997; 29: 219-26

Detection of *Mycoplasma Hominis* and *Ureaplasma Urealyticum* from Semen Samples of Infertile Men Referred to Royan Institute in 2008

* N.Amirmozaffari, PhD^I M.H.Ahmadi, MSc^{II}
 M.A.Sedighi Gilani, MD^{III}
 B.Kazemi, PhD^{IV} F.Masjedian Jazi, MSc^V

Abstract

Background & Aim: Infections caused by genital mycoplasmas may have harmful effects on the fertility of men and may lead to male infertility. This study was performed to detect the prevalence of these bacteria in infertile men referred to Royan Institute.

Patients and Method: Semen samples were collected from 220 infertile men and were inoculated into PPLO broth transport media and sent to the laboratory. Following filtration through 0.45µm pore-size disposable filters, the filterates were inoculated into Arginine PPLO broth and Urea PPLO broth media. In cases of color change, the broth media were sub-cultured onto PPLO agar plates. All media were incubated at 37 °C under elevated CO₂ atmosphere.

Results: From a total of 220 semen samples cultured, 7 cases (3.2%) were positive for only *Mycoplasma hominis*, 61 cases (27.7%) were positive for only *Ureaplasma urealyticum*, and 11 cases (5%) were positive for both of them. Thus, 18 cases (8.2%) of *Mycoplasma hominis* and 72 cases (32.7%) of *Ureaplasma urealyticum* were isolated from the samples. Evaluation of semen parameters showed that pH was lower in the two groups of "only U. urealyticum positive" and "both bacteria positive" than "both bacteria negative" group (p value=0.031 and p value= 0.006 respectively). Also, the mean sperm motility was lower in "both bacteria positive" group than "both bacteria negative" group (p=0.032).

Conclusion: The results of this study showed that a high percentage of infertile men are infected with these bacteria. If these infections are not diagnosed and treated, this may lead to PID and infertility. Therefore, because of high cost of other diagnostic methods such as PCR, isolation of these bacteria in infertile men via culture method is feasible and necessary.

Key Words: 1) *Mycoplasma Hominis* 2) *Ureaplasma Urealyticum*
 3) Infertile Men

This article is an abstract of Mr.Ahmadi's thesis advised by Dr.Amirmozaffari and read by Dr.Sedighi Gilani, Dr.Kazemi and Mr.Masjedian Jazi in partial fulfillment of an MS degree in microbiology.

*I) Associate Professor of Microbiology. Microbiology Department. Iran University of Medical Sciences and Health services. Tehran, Iran. (*Corresponding Author)*

II) MSc in Microbiology. Microbiology Department. Iran University of Medical Sciences and Health Services. Tehran, Iran.

III) Associate Professor of Andrology. Male Infertility Department. Royan Institute. Tehran, Iran.

IV) Associate Professor of Molecular Biology Research Center. Faculty of Medicine. Shahid Beheshti University of Medical Sciences and Health Services. Tehran, Iran.

V) MSc in Microbiology. Microbiology Department. Iran University of Medical Sciences and Health Services. Tehran, Iran.