Original Article

Iranian Journal of Medical Microbiology

Iran J Med Microbiol: Volume 10, Number 3 (July - August)

Journal homepage: www.ijmm.ir

Study of association between *Neisseria gonorrhoeae, Ureaplasma urealyticum* and male infertility

Reyhaneh Karimian, Rasoul Roghanian, Zahra Etemadifar

Department of Biology, Faculty of Science, University of Isfahan, Isfahan, Iran

Article Information

Article history:
Received: 2015/11/14
Accepted: 2016/01/20
Available online: 2016/07/16

Article Subject:
Medical Bacteriology

IJMM 2016; 10(3): 11-18

Corresponding author at:

Rasoul Roghanian

Department of Biology, Faculty of Science, University of Isfahan, Isfahan, Iran.

Tel: 0982146891354

Email:
rj.karimian@gmail.com

Abstract

Background and Aim: *Neisseria gonorrhoeae* and *Ureaplasma urealyticum* are the main cause of genital infections and infertility in both genders. However, there are few studies regarding *N. gonorrhoeae* in semen samples of infertile men. Therefore, the aim of this study was the prevalence of *N. gonorrhoeae* and *U. urealyticum* infection in infertile men.

Materials and Methods: 100 samples were collected from two groups. The first group was 50 samples from men with abnormal semen analysis tests In Isfahan Fertility and Infertility Center and the second was 50 samples from men with normal semen analysis tests in private laboratories. After analysis of semen quality, DNA was extracted from each sample by DNA MAX kit, then Samples were evaluated for these two pathogens by PCR. Results were statistically analyzed.

Results: *Neisseria gonorrhoeae* and *U. urealyticum* was detected by around 2% and 26% in samples of infertile men, respectively. The rate of infection were 0% and 8% in control group, respectively. Our data revealed that there was a significant association between male infertility and *U. urealyticum* infection (p=0.031). However, there was not a significant relationship between male infertility and *N. gonorrhoeae* infection (p=1). There was also no significant relationship between age groups (p=0.38).

Conclusions: Regarding the high frequency of *N. gonorrhoeae* and *Ureaplasma urealyticum* infection in infertile men compared with the control samples, screening test seems to be valuable to detect *U.* urealyticum and *Neisseria gonorrhoeae* infection and prevent infertility in men.

KeyWords: *Neisseria gonorrhoeae*, *Ureaplasma urealyticum*, Male infertility, PCR

Copyright © 2016 Iranian Journal of Medical Microbiology. All rights reserved.

How to cite this article:

Karimian R, Roghanian R, Etemadifar Z. Study of accosiation between male infertility and *Neisseria gonorrhoeae* and *Ureaplasma urealyticum* infection. Iran J Med Microbiol. 2016; 10 (3) :11-18

مقاله پژوهشی

مجله میکروب‌شناسی پزشکی ایران

سال ۱۰ – شماره ۳ – مرداد و شهریور ۱۳۹۵

Journal homepage: www.ijmm.ir

بررسی ارتباط *اوره‌آپلاسما اوره‌آلیتیکوم* و *نایسریا گونوره‌آ* و ناباروری در مردان

ریحانه کریمیان، رسول روغنیان، زهرا اعتمادی فر

گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

اطلاعات مقاله

تاریخچه مقاله

دریافت:۱۳۹۴/۰۶/۱۹

پذیرش:۱۳۹۵/۰۱/۲۷

انتشار آنلاین:۱۳۹۵/۰۵/۳۱

موضوع:

باکتری‌شناسی پزشکی

IJMM 1395; 10(3): 11-18

نویسنده مسئول:

رسول روغنیان

گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان،اصفهان، ایران

تلفن: ۰۹۸۴۶۸۹۱۳۵۴

پست الکترونیک:

rj.karimian@gmail.com

چکیده

زمینه و اهداف: *اوره‌آپلاسما اوره‌آلیتیکوم* و *نایسریا گونوره آ* از باکتری‌های عامل عفونت مجاری ادراری تناسلی و ناباروری می‌باشند که نایسریا گونوره آ کمتر در ناباروری مردان مورد مطالعه قرار گرفته است. در این مطالعه فراوانی عفونت *اوره‌آپلاسما اوره‌آلیتیکوم* و *نایسریا گونوره آ* در مردان نابارور و شاهد مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش کار: از بین مراجعین به مرکز باروری و ناباروری اصفهان، ۵۰ نمونه اسپرم که دارای آنالیز اسپرم غیرطبیعی بودند و از بین مراجعین به آزمایشگاه‌های خصوصی در اصفهان، ۵۰ نمونه اسپرم با آنالیز اسپرم طبیعی گرفته شده و پس از استخراج DNA با روش کیت DNA Max ، نمونه‌ها با از نظر دو پاتوژن مورد نظر مورد بررسی قرار گرفت و داده‌ها مورد تجزیه و تحلیل آماری گردید.

یافته‌ها: *نایسریا گونوره آ* و *اوره‌آپلاسما اوره‌آلیتیکوم* و به ترتیب در ۲٪ و ۲۶٪ مردان نابارور و در ۰٪ و ۸٪ مردان شاهد ردیابی شدند و تجزیه و تحلیل آماری رابطه معنی داری را بین دو گروه مردان برای باکتری *اوره‌آپلاسما اوره‌آلیتیکوم* نشان داد ($p=$ ۰/۰۳۱)، ولی رابطه معنی داری برای *نایسریا گونوره آ* نشان داده نشد ($p=$ ۱). همچنین بین میانگین سنی دو گروه رابطه معنی‌داری یافت نشد ($p=$۰/۳۸).

نتیجه‌گیری: با توجه به فراوانی بالای به دست آمده برای این باکتری‌ها در مردان مورد مطالعه در گروه نابارور نسبت به گروه شاهد، نشان می‌دهد غربالگری *اوره‌آپلاسما اوره‌آلیتیکوم* و *نایسریا گونوره آ* در بررسی عفونت مردان برای جلوگیری از ناباروری در آن‌ها از ارزش تشخیصی بالایی برخوردار است.

کلمات کلیدی: *اوره‌آپلاسما اوره‌آلیتیکوم* ، *نایسریا گونوره آ*، ناباروری در مردان،PCR

کپی‌رایت ©: حق چاپ، نشر و استفاده علمی از این مقاله برای مجله میکروب‌شناسی پزشکی ایران محفوظ است.

مقدمه

ناباروری، یکی از مشکلات مهم در زندگی حدود ۲۵ درصد از زوج‌ها است و این در حالی است که تقریباً علت ۶۰ درصد از موارد ناباروری مربوط به مرد و بقیه موارد مربوط به زن یا هر دو است (۱). عفونت‌ها در مردان یکی از علل شایع ناباروری است به‌طوری‌که ۳۵-۸ درصد موارد ناباروری مردان در سراسر جهان مربوط به عفونت‌های مجرای ادراری تناسلی است (۲). از باکتری‌های عامل عفونت ژنیتال و ناباروری در درجه اول می‌توان به کلامیدیاها، مایکوپلاسماها و اوره‌آپلاسماها اشاره کرد و بعدازاین گروه، گنوکوک، انتروباکتر، استرپتوکوک، انتروکوک، *گاردنرلا واژینالیس* و غیره هستند که ۴ مورد آخر شیوع کمتری دارند (۸-۳). در مورد میزان شیوع مایکوپلاسماهای تناسلی گزارش‌ها و آمارهای متفاوتی وجود دارد به‌طوری‌که شیوع *اوره‌آپلاسما اوره‌آلیتیکوم* در نمونه‌های مایع منی مردان نابارور در مقالات مختلف از ۵ تا ۴۲ درصد ذکر شده است (۱۳-۹). این محدوده وسیع، مربوط به روش‌ها و تست‌های تشخیصی متفاوتی است که جهت بررسی جمعیت‌های مختلف به کار رفته است (۱۴). به دلیل اینکه مجرای ادراری تناسلی با گونه‌هایی از مایکوپلاسما و اوره‌آپلاسما کلونیزه می‌شود، تعیین نقش این ارگانیسم‌ها در ایجاد بیماری در بیماران منفرد مشکل است؛ اما این موردقبول عمومی واقع‌شده است که *اوره‌آپلاسما اوره‌آلیتیکوم* قادر به ایجاد عفونت ادراری غیرگنوکوکی، پیلونفریت (Pyelonephritis) و سقط خودبه‌خود یا تولد زودرس می‌باشد (۱۵). علاوه بر این *اوره‌آپلاسما اوره‌آلیتیکوم* با تولید انواعی از گونه‌های واکنشگر اکسیژن حتی در عدم حضور لوکوسیتواسپرمیا

(افزایش گلبول‌های سفید در اسپرم)، مرتبط است (۱۶). اوره‌آپلاسما با تولید نورآمینیداز از مرحله لانه گزینی بلاستوسیت ممانعت می‌کند و موجب مسمومیت تخمک نیز می‌گردد. علاوه بر آن با تغییر pH ناحیه واژن موجب سقط‌جنین، یا باعث کاهش تعداد و کارایی اسپرم و اختلال خصوصیات فیزیولوژیک مایع واژن و نفوذپذیری اسپرم می‌شود (۱۷). اوره‌آپلاسما اوره‌آلیتیکوم از عوامل ناباروری محسوب می‌شود. این باکتری با تولید O2 و H2O2 موجب آسیب غشای سلولی می‌شود و با آزاد کردن آنزیم اوره آز باعث تولید آمونیاک و نابودی اسپرم‌ها می‌شود (۱۸، ۱۹). عفونت گونوکوکی سبب تغییر در کیفیت اسپرم شده و عفونت مزمن ناشی از آن می‌تواند منجر به مسدود شدن لوله های منی بر و یا وزیکول‌های مایع منی گردد که ناباروری را به دنبال خواهد داشت (۲۰). این باکتری از طریق پیلی‌های مو مانند خود به پروتئین اسپرم متصل شده و از طریق اسپرم به زنان منتقل می‌شود. عفونت با این میکروب در دو دهه گذشته کمتر شده و جای خود را به عفونت با باکتری‌های خطرناک‌تر داده است، ولی هنوز یک بیماری آمیزشی مهم است و به‌ویژه در خانم‌ها سبب عوارض عدیده‌ای می‌گردد. این میکروب سبب عفونت مجرای ادرار می‌شود و اگر درمان نشود به سایر نقاط دستگاه تناسلی سرایت می‌کند. در مردان سبب سوزش ادرار و ترشح چرکی از مجرای ادرار می‌شود و عفونت مجرای ادرار می‌تواند سبب عفونت حاد اپیدیدیم و پروستات شود. به دنبال عفونت، اپیدیدیم ممکن است بسته شود و اگر دوطرفه باشد مرد دچار آزواسپرمی (تعداد اسپرم صفر) خواهد شد. عوارض عفونت با این باکتری بسته به محل عفونت می‌تواند متفاوت باشد و ۱۰٪ از مردان آلوده و ۸۰٪ از زنان آلوده بدون علامت هستند. *کلامیدیا تراکوماتیس* و *نایسریا گونوره‌آ* می‌توانند به زنان منتقل و باعث بیماری التهابی لگن و انسداد لوله‌ها و نازایی شوند (۲۱).

با توجه به نقش این دو پاتوژن در عفونت‌های تناسلی مردان و بالا بردن احتمال ناباروری در آن‌ها، این مطالعه با هدف جستجوی این دو پاتوژن در مایع منی مردان نابارور و شاهد انجام گرفت. بر اساس دانسته‌های ما، این مطالعه در ایران برای اولین بار به بررسی *نایسریا گونوره‌آ* در ناباروری مردان پرداخته است.

مواد و روش‌ها

در یک مطالعه در سال‌های ۱۳۹۳ و ۱۳۹۴ از بین مراجعین به مرکز باروری و ناباروری اصفهان، ۵۰ مرد از زوج‌های نابارور که حداقل یک سال رابطه جنسی بدون پیشگیری ناموفق داشته و بر اساس معیارهای سازمان بهداشت جهانی (WHO: Organization World Health) ، دارای آنالیز مایع منی غیر طبیعی بودند یعنی حداقل یکی از شاخص‌ها در آنالیز مایع منی مانند تعداد، حرکت، مرفولوژی و تعداد گلبول‌های سفید در اسپرم آن‌ها غیر طبیعی بود و ۵۰ مرد از زوج‌های دارای فرزند مراجعه کننده به آزمایشگاه‌های خصوصی در اصفهان به عنوان گروه کنترل که آنالیز مایع منی آن‌ها طبق سازمان بهداشت جهانی طبیعی بود و در هیچ یک از پارامترهای اسپرم نقص نداشتند انتخاب شدند (انتخاب تعداد نمونه ها در این مطالعه براساس متوسط تعداد نمونه های استفاده شده در سایر مطالعات مشابه صورت گرفت). پس از گرفتن رضایت‌نامه کتبی از آن‌ها، نمونه اسپرم به روش استمنا (Masturbation) از آن‌ها گرفته شد. نمونه‌ها سریعاً به آزمایشگاه منتقل شد و در دمای ۳۷ درجه سلسیوس در انکوباتور به مدت ۱۵ دقیقه نگهداری شد تا نمونه مایع شود. پس از ثبت نتایج اسپرموگرام و استخراج DNA نمونه‌ها تا زمان انجام PCR در دمای ۷۰- درجه سلسیوس فریز شدند.

استخراج DNA

جهت استخراج DNA از کیت بافر استخراج DNA Max با کد RB1004 (ساخت شرکت زیست فناوران رنا) استفاده شد. طبق دستورالعمل کیت استخراج انجام و DNA بدست آمده در دمای ۲۰- درجه سلسیوس برای انجام PCR نگهداری شد.

انجام PCR

توالی و مشخصات پرایمرهای مورد استفاده در جدول ۱ آورده شده است. پرایمرهای *اوره‌آپلاسما اوره‌آلیتیکوم* و *نایسریا گونوره آ* پس از انجام PCR، به ترتیب قطعاتی به طول‌های ۱۴۶ bp و ۱۰۱ bp ایجاد می‌کردند. واکنش PCR در حجم کلی ۲۵ µL برای هر واکنش انجام گرفت. مخلوط واکنش شامل 1X PCR buffer، ۱/۵mM $MgCl_2$، ۰/۲۴ mM dNTPs، ۱۰pmol از پرایمر و ۱u از آنزیم Smar Taq DNA پلیمراز بود که بعد از آن ۵ µL DNA به عنوان الگو به مخلوط اضافه شد. برای انجام PCR مخلوط واکنش PCR به مدت ۳ دقیقه در ۹۴°C قرار داده سپس ۳۰ سیکل PCR با مشخصات زیر انجام شد:

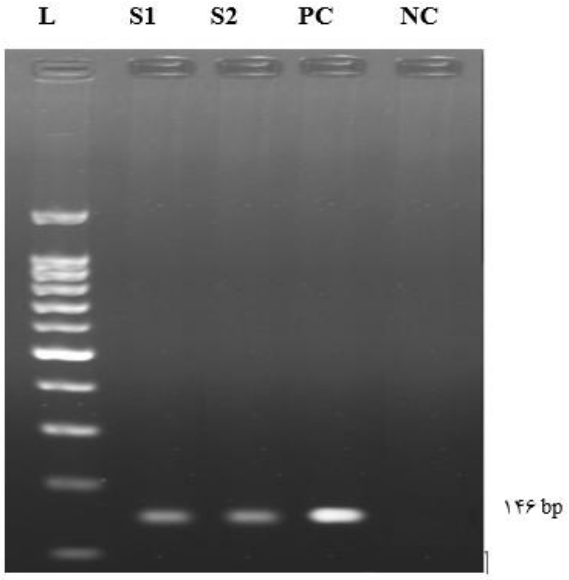
مرحله Denaturation در دمای ۹۴ °C به مدت ۳۰ ثانیه، Annealing برای *اوره‌آ پلاسما اوره‌آلیتیکوم* و *نایسریا گونوره آ* به ترتیب در ۵۰/۷ °C و ۴۹/۵ °C به مدت ۳۰ ثانیه، Extension در ۷۲ °C به مدت ۴۵ ثانیه. پس از ۳۰ سیکل، به مدت ۷ دقیقه واکنش در ۷۲ ° C ادامه یافت. محصولات تکثیر شده‌ی PCR (همراه کنترل مثبت و کنترل منفی که کنترل مثبت سوش های استاندارد باکتری ها و کنترل منفی به جای نمونه آب مقطر گذاشته شد) با استفاده از الکتروفورز توسط ژل آگاروز ۱/۵٪ حاوی اتیدیوم بروماید ردیابی شد و باندهای DNA با عکس‌برداری توسط دستگاه Gel Doc با UV مشاهده گردید. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS و GraphPad مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. برای بررسی ارتباط سن با نتایج از آزمون Independent samples t-test استفاده شد که سطح معنی‌داری ۵٪ در نظر گرفته شد.

جدول ۱: مشخصات و توالی پرایمرهای مورد استفاده در PCR

میکروارگانیسم	ژن هدف	طول قطعه (bp)	توالی نوکلئوتید (5’ to 3’)	منبع
اوره‌آ پلاسما اوره‌آلیتیکوم	ژن اوره‌آز (زیر واحد D)	۱۴۶	CATTGATGTTGCACAAGGAG CGTGATTTTAATGTATCGGCTTTC	۲۲
نایسریا گونوره‌آ	ژن PorA	۱۰۱	CCGGAACTGGTTTCATCTGATT GTTTCAGCGGCAGCATTCA	۲۳

یافته‌ها

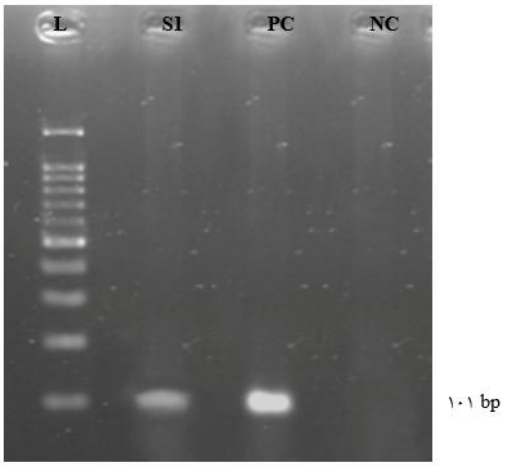
گروه مردان از زوج‌های نابارور در محدوده سنی ۶۶-۲۳ سال (میانگین سنی ۶/۱ ± ۳۴/۹۲) و گروه شاهد از زوج‌های صاحب فرزند در محدوده سنی ۶۱-۲۱ سال (میانگین سنی ۵/۳± ۳۳/۴) بودند که تجزیه‌وتحلیل آماری با آزمون t-test تفاوت معنی‌داری بین میانگین سنی دو گروه نشان نداد (P=۰/۳۸).با انجام آزمایش PCR از مجموع ۵۰ نمونه اسپرم به‌دست‌آمده از مردان در زوج‌های نابارور، ۱۳ نفر (۲۶٪)PCR مثبت از نظر باکتری اوره‌آپلاسما اوره‌آلیتیکوم بودند و با باند ۱۴۶ bp تکثیر پیدا کردند. از ۵۰ نمونه اسپرم به‌دست‌آمده از مردان در گروه شاهد، ۴ (۸٪) نفر PCR مثبت برای باند اوره‌آپلاسما اوره‌آلیتیکوم بودند. درمجموع از ۱۰۰ نمونه اسپرم مردان موردمطالعه، ۱۷ (۱۷٪) نفر آلودگی به این باکتری را نشان دادند. نتایج به‌دست‌آمده از آزمایش PCR مورد تجزیه‌وتحلیل آماری قرار گرفت و نشان داده شد که اختلاف معنی‌داری بین دو گروه شرکت‌کننده برای باکتری *اوره‌آ پلاسما اوره‌آلیتیکوم* وجود داشت (p= ۰/۰۳۱۰). شکل ۱ باندهای مشاهده شده از این باکتری در موقعیت ۱۴۶ bp را نشان می‌دهد.



شکل ۱: الکتروفورز محصولات حاصل از PCR با پرایمر *اوره‌آ پلاسما اوره‌آلیتیکوم* بر روی ژل الکتروفورز، چاهک L : مارکر bp ۱۰۰، چاهک NC : کنترل منفی، چاهک‌های S : نمونه‌های مورد بررسی، چاهک PC : کنترل مثبت

همچنین از مجموع ۵۰ نمونه اسپرم به‌دست‌آمده از مردان در زوج‌های نابارور، ۱ نفر (۲٪)PCR مثبت برای *نایسریا گونوره آ* بودند و با باند ۱۰۱ bp تکثیر پیدا کردند. از ۵۰ نمونه اسپرم به‌دست‌آمده از مردان در گروه شاهد، هیچ آلودگی به این عفونت دیده نشد. درمجموع از ۱۰۰ نمونه اسپرم مردان موردمطالعه، ۱ (۱٪) نفر آلودگی به این باکتری را نشان دادند. نتایج به‌دست‌آمده

از آزمایش PCR مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت و نشان داده شد که اختلاف معنی‌داری بین دو گروه شرکت‌کننده برای باکتری *نایسریا گونوره آ* وجود نداشت (p= ۱/۰۰۰۰). شکل ۲ باندهای مشاهده شده از این باکتری در موقعیت bp ۱۰۱ را نشان می‌دهد. در جدول ۲ خلاصه ای از یافته ها آمده است.



شکل ۲: الکتروفورز محصولات PCR با پرایمر *نایسریا گونوره آ* بر روی ژل الکتروفورز، چاهک L : مارکر bp ۱۰۰، چاهک NC : کنترل منفی، چاهک‌های S : نمونه‌های مورد بررسی، چاهک PC : کنترل مثبت

جدول ۲: درصد فراوانی آلودگی به دو باکتری مورد مطالعه در گروه نابارور و شاهد

باکتری	گروه نابارور	گروه شاهد
اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم	۱۳ (٪۲۶)	۴ (٪۸)
نایسریا گونوره آ	۱ (٪۲)	۰

بحث و نتیجه‌گیری

در مورد *اوره‌آپلاسما اوره‌آلیتیکوم* در این مطالعه ارتباط معنی داری بین این باکتری و ناباروری در مردان وجود داشت. در مطالعه‌ای از Sellami و همکاران در سال ۲۰۱۴، فراوانی این باکتری به‌تنهایی در میان مردان نابارور ۵/۸٪ به‌دست‌آمده است (۲۴) ولی در مطالعه‌ای از Golshani و همکاران در سال ۲۰۰۷، فراوانی این باکتری به‌تنهایی در میان مردان نابارور ۳٪ به دست آمد (۲۵). در تحقیقی دیگری که توسط Najar piraye و همکاران روی مقایسه PCR با کشت برای تشخیص *اوره‌آپلاسما اوره‌آلیتیکوم* در نمونه‌های تناسلی مردان نابارور انجام گرفت، از ۱۰۰ نمونه مایع منی، در ۱۲ نمونه مایع منی افراد نابارور و در ۳ نمونه افراد سالم، *اوره‌آپلاسما اوره‌آلیتیکوم* با روش PCR تشخیص داده شد (که با نتایج به دست آمده در این تحقیق تقریباً مطابقت دارد) و نتیجه کشت در ۵ نمونه بیماران نابارور و یک نمونه افراد سالم مثبت بود (۲۶). در تحقیقی که توسط Ahmadi و همکاران روی شناسایی *مایکوپلاسما هومینیس* و *اوره‌آپلاسما اوره‌آلیتیکوم* در مایع منی مردان نابارور مراجعه‌کننده به پژوهشگاه رویان توسط PCR روی ۲۲۰ نمونه انجام شد به‌طورکلی ۱۵/۵ درصد *مایکوپلاسما هومینیس* و ۴۰/۵درصد *اوره‌آپلاسما اوره‌آلیتیکوم* از نمونه‌ها جدا شد. (۲۷). Gdoura و همکاران در سال ۲۰۰۸، فراوانی این باکتری را در نمونه‌های اسپرم ۱۵/۴٪ و در نمونه‌های ابتدای ادرار ۱۵/۴٪ به دست آوردند (۲۸). Gdoura و همکاران در سال ۲۰۰۷، فراوانی این باکتری را در نمونه‌های اسپرم ۱۵٪ به دست آوردند (۱۴). Al- Sweih و همکاران در سال ۲۰۱۲ فراوانی این باکتری را در مردان نابارور ۲۴/۴٪ و در مردان بارور ۲۶/۱٪ به دست آوردند که ارتباط معنی داری بین این باکتری و ناباروری یافت نشد (۲۹) که علت عدم مطابقت نتایج این مطالعات با مطالعه حاضر می‌تواند به دلیل تفاوت در نمونه و یا روش مورد استفاده باشد. در مطالعه Salari و همکاران صورت گرفته بر روی مردان در سال ۲۰۰۳ با استفاده از سواب یورترا ۱۹/۲٪ از مبتلایان به اورتریت غیر گنوکوکی دارای تست مثبت برای *اوره‌آپلاسما اوره‌آلیتیکوم* و ۷/۲٪ از افراد فاقد این باکتری بودند که ارتباط معنی‌داری را بین حضور این باکتری و ناباروری مردان نشان داد (۳۰). در تحقیقی که توسط Niakan و همکاران روی بررسی *اوره‌آپلاسما اوره‌آلیتیکوم* از مردان نابارور در مقایسه با گروه کنترل روی ۴۰ مرد نابارور با مایع منی غیرطبیعی انجام شد ۴۰ مرد سالم نیز به‌عنوان گروه شاهد انتخاب شدند. میانگین سن افراد گروه مورد ۳۱/۸۷ سال و گروه شاهد ۳۱/۴۵ سال بودند. میزان جداسازی *اوره‌آپلاسما اوره‌آلیتیکوم* در گروه‌های مورد و شاهد به ترتیب ۱۱ نفر (۲۷/۵ درصد) و ۴ نفر (۱۰ درصد) بود. نتایج بیانگر ارتباط معنی‌دار بین ناباروری و ابتلا به عفونت با *اوره‌آپلاسما اوره‌آلیتیکوم* بود (P< ۰/۰۴۵) (۳۱)؛ که مطالعه حاضر نیز تائید کننده وجود این ارتباط بود.

در مورد *نایسریا گونوره آ* در این مطالعه ارتباط معنی داری بین این باکتری و ناباروری در مردان وجود نداشت. در مطالعه‌ای از Sellami و همکاران در سال ۲۰۱۴، فراوانی این باکتری به‌تنهایی در میان مردان نابارور ۵/۸٪ به‌دست‌آمده است (۲۴). در مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۲، Domes و همکاران فراوانی *نایسریا گونوره آ* را در مردان نابارور مراجعه‌کننده به کلینیک ناباروری در

کانادا با روش SDA (Strand-displacement amplification assay)در کمترین مقدار به ترتیب ۰/۰۵۳۷٪ یافتند (۳۲). در مطالعه‌ای از Abusarah و همکاران در سال ۲۰۱۳ توزیع *نایسریا گونوره آ* ، *اوره‌آپلاسما اوره‌آلیتیکوم* در مایع اسپرم و نمونه ابتدای ادرار بین مردان نابارور در مقابل مردان بارور مراجعه‌کننده به کلینیک زنان و زایمان اردن، به ترتیب ۶/۵٪ در مقابل ۰٪، ۱۰/۸٪ در مقابل ۵/۷٪ به دست آمد که فراوانی همه باکتری‌ها در مردان نابارور بیشتر از مردان بارور بود، ولی در مورد *نایسریا گونوره آ* ارتباط معنی‌داری بین حضور باکتری و ناباروری مردان دیده شد (۳۳) که با این مطالعه ما مطابقت ندارد که می‌تواند به علت دوری فرهنگ‌های این کشورها از ایران باشد.

کلونیزاسیون مایکوپلاسما و اوره‌آپلاسمای تناسلی معمولاً توسط کشت تشخیص داده می‌شوند .بااین‌حال کشت‌ها، وقت‌گیر هستند مانند گونه‌های اوره‌آپلاسما و *مایکوپلاسما هومینیس* که نیاز به ۵-۲ روز دارند و *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* تا ۸ هفته رشد می‌کند، درحالی‌که تکنیک‌های تکثیر اسید نوکلئیک می‌تواند عوامل عفونی را در کمتر از ۸ ساعت تشخیص دهد (۳۴). در روش PCR برای انجام آزمایش نیازی به باکتری زنده نیست بنابراین نتایج کمتر تحت تأثیر نمونه‌برداری و انتقال قرار می‌گیرد. همچنین می‌توان در عرض چند ساعت چندین نمونه را به‌طور هم‌زمان مورد آزمایش قرار داد و نتایج را منعکس کرد (۳۵،۳۶،۳۷). روش‌های مولکولی نظیر PCR انقلابی در تشخیص بیماری‌های عفونی خصوصاً بیماری‌هایی که عامل سببی آن‌ها سخت رشد و یا غیرقابل‌کشت است ایجاد کرده‌اند. حساسیت زیاد و سادگی انجام PCR سبب شده که در تشخیص مایکوپلاسماهای سخت رشد به کار گرفته شود. (۳۸). اوره‌آپلاسما به اوره جهت رشد نیاز دارند، اما به دلیل قلیایی شدن محیط که ناشی از متابولیسم اوره می‌باشد، رشد آن‌ها مهار می‌شود؛ بنابراین محیط رشد باید با اوره غنی و بسیار بافری شده باشد. حتی اگر این مراحل نیز صورت گیرد، اوره‌آپلاسماها بعد از جداسازی اولیه به‌سرعت از بین می‌روند (۱۵). اوره‌آپلاسما در شرایط آزمایشگاه خیلی ضعیف رشد می‌کند و حداکثر تیتر آن $۱۰^{۷}$ ارگانیسم در هر میلی‌لیتر از کشت است (۳۸). همچنین تست های مولکولی جایگزین کشت و دیگر تست‌های تشخیصی برای *نایسریا گونوره آ* در اغلب آزمایشگاه‌ها شده‌اند. (۱۵). بنابراین در این مطالعه از نمونه ها به صورت مستقیم برای روش مولکولی استفاده شد و نمونه ها کشت داده نشد و پیشنهاد می شود در مطالعات بعدی به جای روش کشت و روش های وقت گیر از روش های مولکولی و سرولوژی در این زمینه برای بهبود مطالعات انجام شود.

تقدیر و تشکر

این مقاله حاصل پایان‌نامه در مقطع کارشناسی ارشد در سال ۹۴-۹۳ می‌باشد و کلیه هزینه‌های این پژوهش توسط دانشگاه اصفهان حمایت شده است.

تعارض منافع:

بین نویسندگان و مجله میکروب‌شناسی پزشکی ایران هیچ گونه تعارض منافعی وجود ندارد.

References

1. Ahmad MK, Mahdi AA, Shukla KK, Islam N, Jaiswar SP, Ahmad S. Effect of Mucuna pruriens on semen profile and biochemical parameters in seminal plasma of infertile men. Fertil Steril. 2008; 90(3): 627-635.

2. Askienazy-Elbhar M. Male genital tract infection: the point of view of the bacteriologist. Gynecologie, Obstetrique & Fertilite. 2005; 33(9): 691-697.

3. Qin KG, Hou YX, Zhang LY, Li MH, Yang SX, Ma Y. [A case control study on the risk factors of male infertility]. Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi. 2003;24(1):30-32.

4. 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): 1-13.

5. Kjærgaard N, Kristensen B, Hansen ES, Farholt S, SCHØONHEYDER H, Uldbjerg N, Madsen H. Microbiology of semen specimens from males attending a fertility clinic. Apmis. 1997; 105(7-12): 566-570.

6. Hunter JM, Young H, Harris AB. Genitourinary infection with *Ureaplasma urealyticum* in women attending a sexually transmitted diseases clinic. Brit J Vener Dis. 1981; 57(5): 338-342.

7. Corradi G, Molnar G, Panovics J, Lindeisz F. Significant bacteriospermia. Value and limits of sperm count in andrology. Orvosi Hetilap. 1992; 133(43): 2759-62.

8. Boivin J, Bunting L, Collins J A, Nygren KG. International estimates of infertility prevalence and treatment-seeking: potential need and demand for infertility medical care. Hum Reprod. 2007; 22(6): 1506-1512.

9. 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(5): 562-568.

10. Rosemond A, Lanotte P, Watt S, Sauget AS, Guerif F, Royere D, Mereghetti L. Systematic screening tests for *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* in urogenital specimens of infertile couples. Pathologie-Biologie. 2006; 54(3): 125-129.

11. Knox CL, Allan JA, Allan JM, Edirisinghe WR, Stenzel D, Lawrence FA, Purdie DM, Timms P. *Ureaplasma parvum* and *Ureaplasma urealyticum* are detected in semen after washing before assisted reproductive technology procedures. Fertil Steril. 2003; 80(4): 921-929.

12. De Jong Z, Pontonnier F, Plante P, Perie N, Talazac N, Mansat A, Chabanon G. Comparison of the incidence of *Ureaplasma urealyticum* in infertile men and in donors of semen. Eur Urol. 1989;18(2): 127-131.

13. Andrade-Rocha FT. *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis* in men attending for routine semen analysis. Urol Int. 2003; 71(4): 377-381.

14. Gdoura R, Kchaou W, Chaari C, Znazen A, Keskes L, Rebai T, Hammami A. *Ureaplasma urealyticum*, *Ureaplasma parvum*, *Mycoplasma hominis* and *Mycoplasma genitalium* infections and semen quality of infertile men. BMC Infect Dis. 2007; 7(1): 129.

15. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Medical Microbiology, with Student Consult Online Access, 7: Medical Microbiology. Elsevier Health Sciences; 2013.

16. Taylor-Robinson D. *Mycoplasma genitalium*-an up-date. Int J Std Aids 2002; 13(3): 145-151.

17. Je O, Klein M. *Mcoplasma* infectious. [Editorial]. Man Clin Microbial. 1986; 12(4):443-460.

18. Marais NF, Wessels PH, Smith MS, Gericke A, Richter A. *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* infections in women. Prevalence, risks and management at a South African infertility clinic. J Reprod Med. 1991; 36(3): 161-164.

19. Stellrecht KA, Woron AM, Mishrik NG, Venezia RA. Comparison of multiplex PCR assay with culture for detection of genital *mycoplasmas*. J Clin Microbiol. 2004; 42(4): 1528-1533.

20. Megory E, Zuckerman H, LUNENFELD B. Infections and male fertility. Obstet Gynecol Surv. 1987; 42(5): 283-290.

21. Ochsendorf FR. Sexually transmitted infections: impact on male fertility. Andrologia. 2008; 40(2): 72-75.

22. Vancutsem E, Soetens O, Breugelmans M, Foulon W, Naessens A. Modified real time PCR for detecting, differentiating, and quantifying *Ureaplasma urealyticum* and *Ureaplasma parvum*. J Mol Diagn. 2011; 13: 206–212.

23. Hjelmevoll SO, Olsen ME, Sollid JU, Haaheim H, Unemo M, et al. A fast real time polymerase chain reaction method for sensitive and specific detection of the *Neisseria gonorrhaeae* por A pseudogene. J Mol Diagn. 2006; 8: 574–581.

24. Sellami H, Znazen A, Sellami A, Mnif H, Louati N, Zarrouk SB, Hammami A. Molecular Detection of *Chlamydia trachomatis* and Other Sexually Transmitted Bacteria in Semen of Male Partners of Infertile Couples in Tunisia: The Effect on Semen Parameters and Spermatozoa Apoptosis Markers. PloS One. 2014; 9(7): e98903.

25. Golshani M, Eslami G, Ghobadloo SM, Fallah F, Goudarzi H, Rahbar AS, Fayaz F. Detection of *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* by multiplex PCR in semen sample of infertile men. Iran J Public Health. 2007; 36(2): 50-57.

26. Najar piraye Sh, Zeyghamy H, Farshchian M, Otofi J. Comparison of PCR and culture for the detection of *ureaplasma urealyticum* in genital specimens in infertile men. Hakim Res J. 2007; 10(3): 48 – 53.

27. Ahmadi M, Mozaffary Amir N, Kazemi B, Seddighi Gilani M, Masjedian Jazi F. Identification of *Mycoplasma hominis* and *ureaplasma urealyticum* in the semen of infertile men who referred to Royan institute in 2009 by PCR. Medical Journal of Cell. 2010; 12(3): 371-380.

28. Gdoura R, Kchaou W, Ammar-Keskes L, Chakroun N, Sellemi A, Znazen A, Hammami A. 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.

29. Al-Sweih NA, Al-Fadli AH, Omu AE, Rotimi VO. Prevalence of *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium*, and *Ureaplasma urealyticum* infections and seminal quality in infertile and fertile men in Kuwait. J Androl. 2012; 33(6): 1323-1329.

30. Salari MH, Karimi A. Prevalence of *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma genitalium* in men with non-gonococcal urethritis. East Mediterr Health J. 2003 May; 9(3): 291-5.

31. Niakan M, Moradi B, Ragheb Sh. *Ureaplasma urealyticum* study of infertile men compared with the control group. J Med Microbiol. 2009; 3(1): 31-35.

32. Domes T, Lo KC, Grober ED, Mullen JB, Mazzulli T, Jarvi K. The utility and cost of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* screening of a male infertility population. Fertil Steril. 2012; 97(2): 299-305.

33. Abusarah EA, Awwad, ZM, Charvalos E, Shehabi AA. Molecular detection of potential sexually transmitted pathogens in semen and urine specimens of infertile and fertile males. Diagn Micr Infec Dis. 2013; 77(4): 283-286.

34. Chernesky MA, Lee H, Schachter J, Burczak JD, Stamm WE, Mccormack WM, Quinn TC. (1994). Diagnosis of *Chlamydia trachomatis* urethral infection in symptomatic and asymptomatic men by testing first-void urine in a ligase chain reaction assay. J Infect Dis. 1994, 170(5): 1308-1311.

35. Musavian SM, Motamedi H, Maleki S, Shahbazian N. Comparison of the prevalence of Mycoplasma hominis and ureaplasma urealyticum in women with urogenital infections, using Multiplex PCR and bacterial culture methods. Med J Tabriz Univ Med Sci. 1390; thirty third year,fifth issue,91-97.

36. Najar piraye Sh, Al e Yasin A. Comparison of PCR and culture for the detection of Mycoplasma hominis in infertile women. Kowsar Med J. 2005; 10(3): 183-190.

37. Peerayeh SN, Samimi R. Detection of ureaplasma urealyticum in clinical samples from infertile women by polymerase chain reaction. Iranian Journal of Pharmacology & Therapeutics. 2007;6(1):23-26.

38. Baron S. Medical microbiology fourth edition. The University of Texas Medical Branch at Galveston, Texas, US;1996.