مجله میکروب شناسی پزشکی ایران

سال ۱ شماره ۱ بهار ۱۳۸۶، صفحات ۴۷ – ۵۳

شناسایی ژنوم مایکوپلاسما در اسپرم مردان نابارور به روش PCR

دکترعلی اکبرسلیمانی رهبر*[۱]، مریم گلشنی[۱]، دکترفریبا فیاض[۱]، دکتر صدیقه رفیعی طبا طبایی[۲]، دکتر آرزو مرادی[۲]

۱) گروه میکروبیولوژی دانشکده پزشکی،دانشگاه علوم پزشکی شهیدبهشتی،تهران

۲) مرکز تحقیقات عفونی اطفال، دانشگاه علوم پزشکی شهیدبهشتی،تهران

نویسنده رابط : دکترعلی اکبرسلیمانی رهبر،دانشیار گروه میکروبیولوژی دانشکده پزشکی،دانشگاه علوم پزشکی شهیدبهشتی ، مرکز تحقیقات عفونی اطفال , تهران

تلفن : ۰۲۱۲۲۲۲۲۶۹۴۱ pedircorg@yahoo.com

تاریخ دریافت مقاله : ۸۶/۳/۲۰ تاریخ پذیرش مقاله : ۸۶/۴/۳

چکیده :

زمینه و اهداف: عفونت ژنیتال یکی از علل مهم ناباروری در مردان است. یک گروه از باکتری های مهم عامل ناباروری مایکوپلاسماها می باشند. این عفونت ها خصوصا انواع مزمن آنها با اثرات مخرب بر پارامترهای کیفی اسپرم و یا تنگی و انسداد مجاری ژنیتال باعث عقیمی مرد می شوند . از طرف دیگر با انتقال به همسر وی باعث عفونت ژنیتال ، ناباروری وسقط می گردند.هدف ازاین تحقیق جداسازی مایکوپلاسماها از اسپرم مردان نابارور به روش PCR است.در این صورت تشخیص بموقع و درمان مناسب آن باعث باز گشت قدرت باروری به بیمار می شود.

روش بررسی: در این پروژه تعداد ۱۰۰ مرد مبتلا به نا باروری مراجعه کننده بمراکز درمانی پس از معاینه و تایید بیماری توسط پزشک متخصص ، و در صورت عدم مصرف آنتی بیوتیک از یک هفته قبل انتخاب شدند. نمونه اسپرم آنها بطور استریل گرفته شده و سپس سریعا به آزمایشگاه ارسال شد. نمونه ها برای بررسی وجود اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم و مایکوپلاسما هومینیس به روش PCR آزمایش شدند.

یافته ها: از ۱۰۰ مرد مبتلا به ناباروری ۳۳ نفر (۳۳درصد) PCRمثبت و آلوده به ارگانیسم های کلامیدیاها ، مایکوپلاسما و اوره آپلاسما بودند. ازاین تعداد، ۱۷ مورد اورآپلاسما اوره آلیتیکوم و۳ مورد مایکوپلاسماهومینیس جداشد که در مجموع۲۰ مورد (۲۰درصد) نمونه ها راشامل شدند. سابقه عفونت واژینال وسقط در همسران این بیماران بررسی ومورد مقایسه قرار گرفت. ازنمونه اسپرم بیماران اسپرموگرام نیزانجام گرفته ونتایج آن با جواب PCR مقایسه شد.

نتیجه گیری : آلودگی به مایکوپلاسماها در مردان نابارور باعث اتصال این ارگانیسم هابه اسپرماتوزوئیدها وبروز تغییرات اسپرموگرام شده و از طرفی با انتقال عفونت به همسران آنها ممکن است سقط جنین وناباوری ایجاد کند. با توجه به مشکلات موجود بر سر راه کشت این میکروارگانیسم ها ، بنظر می رسد استفاده ازروش سریع و حساس PCR جهت تشخیص این باکتری ها در بیماران با ارزش باشد.

کلید واژه ها : ناباروری،مایکوپلاسما، PCR.

مقدمه:

جهان امروز با معضل ناباروری دست به گریبان است. ناباروری در مردان بعلت تغییر در پارامترهای استاندارد کیفی اسپرم (تعداد، مورفولوژی، حرکت پیشرونده و قابلیت حیات) و ایجاد آنتی بادیهای ضد اسپرم، منجر به تنگی وانسداد مجاری سمینال و غیره شده ، در نتیجه توانایی مرد برای باروری بطور موقت یا دایم از بین می رود(۱).

عفونت های باکتریال از مهمترین علل ناباروری در مردان است. از باکتریهای عامل عفونت ژنیتال و ناباروری در درجه اول می توان به کلامیدیاها ، مایکوپلاسماها و اوره آپلاسماها (CMU) اشاره کرد. بعد از این گروه ،گنوکوک ، انتروباکتریها ، استرپتوکوکها، انتروکوکها ، گاردنرلا واژینالیس و غیره هستند که چهار مورد آخر شیوع کمتری دارند (۶- ۱).

عفونت ژنیتال فاکتور اتیولوژیکی مهمی در ناباروری مردان بشمار می رود. در نتیجه اتصال باکتری به اسپرم و یا ترشح سموم و آنزیم ها و یا از طریق تحریک سیستم ایمنی علیه اسپرم، آسیب به تمام نواحی آناتومیک اوروژنیتال ایجاد شده و در نتیجه منجر به آسیب عملکرد اسپرم و تخریب آن و سپس تنگی مجاری سمینال می گردد. مردانیکه سابقه ابتلا به STD* (بیماریهای انتقالی ازراه های جنسی) دارند و یا مبتلا به اورتریت غیر گنوکوکی مزمن یا تحت حاد هستند ویا عفونت بدون علامت گروه CMU را دارند ، ممکن است دچار نا باروری شوند(۱۵-۷).

نکته قابل توجه در این مردان آن است که عوامل عفونی در غدد جنسی آنان تجمع کرده و با اتصال به سر و بخش میانی اسپرماتوزوییدها قادرند به همسران این افراد منتقل شده و سپس ایجاد عفونت نمایند و نهایتا باعث سقط تکراری و تولد نوزاد نارس شوند.بعلاوه باید امکان انتقال عفونت از این مادران به نوزادان و ایجاد عفونت های مغزی ، تنفسی ، کنژنکتیویت و غیره را در نظر گرفت (۲۱-۱۶). اهمیت عفونتهای بدون علامت ژنیتال تا اندازه ایست که حتی در شرایط آزمایشگاهی بر قدرت باروری مرد و گاه همسرش اثر می گذارد. بطوریکه در استفاده از روشهای نوین لقاح خارج رحمی مثل Zona Pellucida و غیره در صورت آلوده بودن اسپرم به باکتریهای نامبرده ، میزان موفقیت لقاح بسیار کاهش یافته ، امکان آلودگی جنین و یا ناتوانی اسپرماتوزویید برای لقاح با تخمک بوجود می آید (۲۲).

مواد و روش ها:

از تعداد ۱۰۰ مرد نابارور مراجعه کننده به مرکز ناباروری مهدیه که تحت پوشش دانشگاه شهید بهشتی می باشد و ناباروری زوج از طریق پزشک متخصص تأیید شده بود نمونه مایع Semen گرفته شد . این افراد با توجه به عدم مصرف آنتی بیوتیک پس از تکمیل فرم اطلاعاتی و بررسی سوابق پرونده پزشکی وارد مطالعه شدند. بر اساس استانداردهای موجود بیماران از ۷۲- ۴۸ ساعت قبل می بایست پرهیز جنسی داشته و از یک هفته قبل مصرف هر گونه آنتی بیوتیک را قطع نموده باشند. نمونه ها در ظروف استریل مخصوص ادرار جمع آوری و نهایتاً تا زمان انجام آزمایش در دمای ۷۰ ° C − نگهداری می شد.

استخراج DNA :

مرحله لیز : نمونه های سیمن را به میکروتیوب ۵/ ۱ منتقل نموده و هم حجم آن lysis buffer اضافه کرده و به مدت ۴ ساعت در انکوباتور ۵۵ قرار دادیم. سپس نمونه ها را به مدت ۲۰ دقیقه در آب جوش جوشاندیم .

مرحله حذف مواد آلی : هم حجم نمونه ، فنل متعادل شده اضافه نموده و بعد از ورنکس و سانتریفوژ g / ۸۰۰۰ به مدت ۵ دقیقه مایع رویی را بدون تماس بافنل جدا کرده و در تیوپ جدید ریختیم . در این مرحله ، به محصول هم حجم آن کلروفرم اضافه نموده و دوباره این پروسه را تکرار کردیم.

مرحله تغلیظ: دو برابر حجم نمونه الکل مطلق اضافه کرده و محصول را g / ۸۰۰۰ به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ کردیم تا DNA رسوب نماید. پس از خارج کردن مایع رویی و خشک شدن لوله ها ، μ L ۱۰۰ اتانل ۷۰ درجه به تیوپ ها اضافه شده و دوباره همان کارها را تکرار کردیم. پس از خشک شدن لوله ها ، تعداد μ L ۵۰ آب مقطر استریل به DNA اضافه کرده و به مدت ۵ دقیقه آن را در انکوباتور یا بن ماری ۳۷ ° C قرار دادیم تا DNA حل شود. این محصول تا زمان انجام آزمایش در فریزر ۲۰ ° C − ذخیره شدند.

واکنش PCR : واکنش زنجیره ای پلیمراز یک تکنیک آزمایشگاهی است که امکان تکثیر توالی ویژه از DNA به طور انتخابی به میزان چندین میلیون نسخه امکان پذیر می گردد . مواد مورد استفاده در PCR عبارتند از ، آنزیم Taq پلیمراز ، داکسی نوکلئوتید تری فسفات (dNTP) ، بافر PCR، $Mg\ CL_2$ ، پرایمر های زیر:

* STD: Sexually Transmitted Disease

1. CT: KL_1
TCCGGTGCGACTTACGAAGA
KL_2
AATCATTCGCGGGGATTGGT
2. UU: U_9
GAGATCAGCATTAAGCGTGACGATCT
U_9
TAGCCATCGGTCGTAGGACGC
3. MH: RNA H_1
GAATCCCTAATGCCGTGAACGGC
RNA H_2 TTCACCGTCACGCTGCATA

بهترین نتایج ، در دمای C ° ۹۵ به مدت ۳۰ ثانیه ، ۵۲ درجه به مدت ۳۰ ثانیه , دمای C ° ۷۲ به مدت ۴۵ ثانیه به دست آمد که این برنامه دمایی برای انجام ۳۵ سیکل تنظیم شد . در ضمن بطور همزمان از ژن بتا گلوبین برای کنترل واکنش PCR استفاده شد.

محصول PCR در واقع قطعه ای از DNA با طول مشخص است که تکثیر یافته و برای تأیید این تکثیر محصول PCR روی ژل آگارز الکتروفوز می شود . آگارز پلی ساکاریدی است که از واحد های تکرار شونده آرابینوز دی ساکارید مشخص شده است. پس از اینکه محصول PCR و Loading buffer حدود ۲ سانتی متر بر روی ژن حرکت کرد ، ژل داخل دستگاه قرار داده شد . اتیدیوم بروماید به داخل رشته های DNA وارد شده و با تابش نور ، UV تولید رنگ فلورسنت نمود. و محلی که باند های DNA قرار دارند مشخص گردید (۲۳).

CT: کلامیدیا تراکوماتیس

UU: اوره آ پلاسما اوره آلیتیکوم

MH: مایکوپلاسما هومینیس

یافته ها:

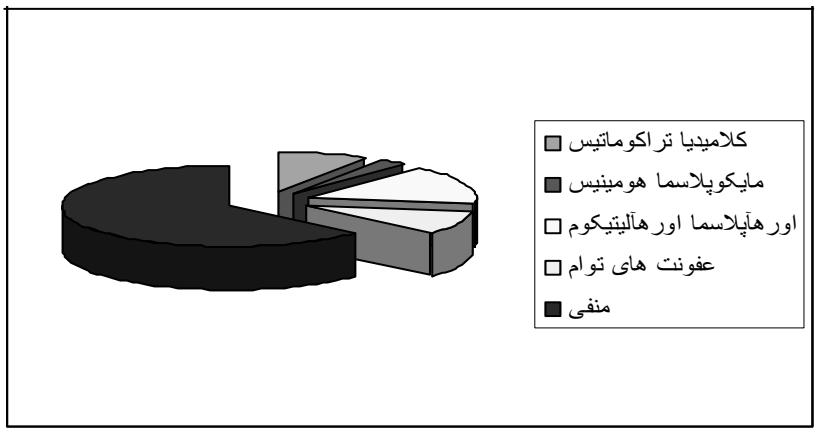
دراین تحقیق ۱۰۰نفرازمردان نابارورمراجعه کننده به مراکزدرمانی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی تحت آزمایش قرارگرفتند. ازاین تعداد ۳۳ نفر(۳۳ درصد) آلوده به ارگانیسم های CMU بودند. که ازاین میان ۹ مورد کلامیدیا، ۱۷ مورد اوره آپلاسما اوره آلیتیکم و۳ مورد مایکوپلاسماهومینیس مثبت بودند. بنابراین ارگانیسم های مورد نظرما دراین تحقیق ۱۷ مورداوره آپلاسما و ۳ مورد مایکوپلاسما بودند که درمجموع ۲۰ مورد یا ۲۰درصد کل نمونه ها را شامل می شدند .دربین این افراد ۱۰ نفرآلودگی توام داشته و آلوده به دو یاسه ارگانیسم فوق بودند. از نظر سنی همه این بیماران در فاصله سنی۲۰تا۵۰ سال قرار داشتند.

۴۵ نفراز بیماران درگروه سنی ۲۰ الی ۳۰ سال بودند که۱۶ نفر (۳۵،۶ درصد) آنها جواب مثبت داشتند. ۴۳ نفردرگروه سنی ۳۱ الی ۴۰ سال بودند که ۱۳ نفر(۳۰،۲ درصد) جواب مثبت داشتند.۱۲ نفرباقیمانده درگروه سنی۴۱ تا۵۰ سال بودند که۴ نفراز آنها دارای جواب مثبت بودند (۳۳،۳ درصد).(جدول ۱).هم چنین میزان سن و تحصیلات بیماران مورد توجه قرار گرفت و مشخص شد با افزایش سن وتحصیلات، میزان عفونت کاهش می یابد.(جدول ۲)

از گروه ۱۰۰نفره فوق ۷ مورد(۷درصد) بنابر تشخیص پزشک متخصص مبتلا به ناباروری ثانویه بودند که هیچکدام ازآنها جواب مثبت نداشتند. نکته جالب آن است که این ۱۰۰نفر به جز مشکل ناباروری علائم بالینی دیگری نداشتند و بدون سابقه عفونت ژنیتال بودند.

دراین مطالعه سابقه عفونت واژینال در همسران این افراد تحت بررسی قرارگرفت. درنتیجه ۱۶ نفر سابقه عفونت واژینال داشتند که در ۵ مورد ازآنها نتیجه PCR مردان هم مثبت شد (۳۱،۵ در صد).همچنین بررسی سابقه سقط در میان این زوج ها نشان دادکه ۱۶ نفر سابقه سقط داشتند و از این تعداد نتیجه PCR مردان در ۸ مورد (۵۰ درصد) مثبت بود.

دربررسی اسپرموگرام۱۰۰ بیمارفوق ، ۲۵ نفر(۲۵درصد) آزوسپرمی کامل داشتند که ازاین گروه ۷ نفر(۲۸درصد)PCR مثبت بودند. ۱۱ نفر(۱۱درصد) از مردان نابارور مبتلا به الیگوسپرمی بودند که شمارش اسپرماتوزوئید بین ۱۰- ۸/ ۰ میلیون درسانتیمتر مکعب، میزان تحرک پیشرونده اسپرماتوزوئید ۲۰ - ۱درصد و اشکال طبیعی اسپرماتوزویید ۸۰-۳۰درصد داشتند. تعداد افراد PCRمثبت دراین گروه ۵ مورد (۴۵،۵درصد) بود. ۱۵ نفراز بیماران (۱۵درصد) الیگوسپرمی باشمارش اسپرماتوزویید ۲۰- ۱۰ میلیون ومیزان تحرک پیشرونده ۴۰-۵ درصد با اشکال طبیعی ۹۰-۳۵ درصد داشتند. ۸ نفر از گروه مذکور PCR مثبت (۳۳،۵۳ درصد) داشتند.۱۲ نفر(۱۲درصد) شمارش اسپرماتوزویید طبیعی بیش از ۲۰میلیون درسانتیمترمکعب با تحرک پیشرونده ۴۰-۱۰درصدونیز اشکال طبیعی ۹۰-۴۰درصد داشتند.موارد مثبت PCR دراین گروه ۳ مورد (۲۵درصد) بود. ۳۷ نفر باقیمانده (۳۷درصد) از افراد نابارواسپرموگرام کاملا طبیعی داشتند اما در این گروه نیز ۱۰ مورد (۲۷درصد) PCR مثبت بود.



نمودار شماره ۱ : توزيع فراواني باكتري هاي جدا شده از نمونه اسپرم مردان مبتلا به ناباروري مراجعه كننده به مراكز درمانی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی به روش Multiplex PCR

جدول شماره ۱: توزیع فراوانی عفونت در مردان مبتلا به ناباروری مراجعه کننده به مراکز درمانی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی بر حسب سن.

سن	موارد مثبت (٪)	موارد منفی (٪)	کل
۳۰-۲۰ سال	٪۳۵،۵۵	٪ ۶۴،۴۵	٪۴۵
۴۰-۳۱سال	٪۳۰،۲۳	٪۶۹،۷۷	٪۴۳
۵۰-۴۱ سال	٪۳۳،۳۳	٪۶۶،۶۶	٪۱۲
جمع	٪۱۰۰	٪۱۰۰	٪۱۰۰

جدول شماره ۲: توزیع فراوانی مردان مبتلا به ناباروری مراجعه کننده به مراکز درمانی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی بر حسب میزان تحصیلات.

میزان تحصیلات	موارد مثبت (٪)	موارد منفی (٪)	کل
زیر دیپلم	٪۳۸،۱۸	٪۶۱،۸۲	٪۵۵
دیپلم	٪۲۹،۶۲	٪۷۰،۳۸	٪۲۷
دانشگاهی	٪۲۲،۲۲	٪۷۷،۷۸	٪۱۸
جمع	٪۱۰۰	٪۱۰۰	٪۱۰۰

بحث:

ناباروری مردان معضلی است که ٤٠ درصد از کل ناباروریها را به خود اختصاص می دهد. عوامل متعددی ممکن است در ناباروری مردان دخالت داشته باشند که عفونت باکتریایی مجاری اوروژنیتال یکی از علل عمده این بیماری است. مطابق آمارهای موجود ۳۵- ۸ درصد ناباروری مردان با عفونتهای اوروژنیتال مرتبط هستند.عفونت غدد جنسی مردان یک ریسک فاکتور مهم درایجاد ناباروری بشمار می آید. دراین میان عفونتهای بدون علامت بعلت عدم مراجعه بیماران به پزشک وپیشرفت بیماری نقش مهمتری را در ایجاد ناباروری ایفا می کنند (۲۷-۲۴). دراین مورد باید متذکرشد که درکشورما به علل باکتریال ناباروری مردان کمتر توجه شده واین گروه ازبیماران دراکثر موارد تحت آزمایش میکروبیولوژیکی قرار نمی گیرند.

عوامل باکتریایی متعددی درناباروری مردان دخالت دارند، ولی شایعترین و مهمترین آنها اورآپلاسما اورآلیتیکوم، کلامیدیاتراکوماتیس ومایکوپلاسماهومینیس هستند .این گروه باایجاد عفونت درمجاری اوروژنیتال نقش اتیولوژیکی مهمی درناباروری مردان بعهده دارند (۲۸،۲۳).

دراین تحقیق نمونه اسپرم ۱۰۰ مرد نابارور به روش ملکولی تحت بررسی قرارگرفت. تمام افراد مذکور بجز ناباروری فاقدعلائم بالینی دیگری بودند. این امر اهمیت عفونتهای مخفی رادر ایجاد ناباروری نشان می دهد.دراین تحقیق ۳۳ مورد پاسخ مثبت ازنظرارگانیسم های CMU داشتیم (۳۳درصد) که اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم ۱۷مورد (۱۷درصد) و مایکوپلاسماهومینیس ۳ مورد (۳درصد) - درمجموع۲۰ مورد (۲۰درصد) - راشامل می شدند.

هم چنین میزان سن و تحصیلات بیماران مورد توجه قرار گرفت و مشخص شد با افزایش سن و تحصیلات، میزان عفونت کاهش می یابد . بدین ترتیب بیشترین موارد عفونت در رده سنی ۲۰-۳۰ سالگی و درافراد با تحصیلات زیر دیپلم مشاهده گردید.دراین مطالعه تغییرات اسپرموگرام بیماران نیزموردبررسی قرارگرفت.در مقایسه بااین بررسی تحقیقات زیر قابل توجه می باشند:

درتحقیقی که توسط Stellrech KA وهمکارانش در سال ۲۰۰۴در افراد ناباروردرآمریکا انجام شد، دو روشPCRوکشت برای تشخیص مایکوپلاسماهای ژنیتال از۲۶ نمونه سواب سرویکال،۲ سواب واژینال،۴ نمونه ادرارزن،۷ مورد ادرار مرد و۴۹ نمونه اسپرم مورد بررسی قرارگرفت.درنتیجه ۲۱ نمونه کشت مثبت داشتند(۲۵درصد) که در۱۷ مورد از آنها نیز PCR مثبت بود.

البته ۱۱مورد PCR مثبت باکشت منفی داشتند،بنابراین درمجموع ۲۸ مورد PCR مثبت داشتند . از این ۲۸ مورد۲۳ مورد(۸۲درصد) گونه اوره آپلاسما، ۳ مورد مایکوپلاسما (۱۱درصد) و۲ مورد (۷درصد) هردوگونه را داشتند. صرف نظر از انجام کشت ونتایج مربوط به آن نتایج این گروه بامطالعه ما قابل مقایسه است (۲۹).

در تحقیق دیگری که درسال۲۰۰۵ توسطLu MG وهمکاران درچین انجام گرفت، وجود دو بیوو اراوره آپلاسما درنمونه اسپرم۹۴۹ بیمار بررسی شد . ازاین تعداد ۱۹۹ مورد (۲۱ درصد) مثبت بودند که درمقایسه باتحقیق ما رقم بالاتری بود.درضمن کاهش قابل توجه در پارامترهای اسپرم درافرادمثبت مشاهده شد (۳۰).

دریک مطالعه که توسط Sanocka-Macie D وهمکاران درسال ۲۰۰۵ درلهستان انجام گرفت، ۲۹مرد مبتلا به عفونتهای ژنیتال و۱۴ مرد سالم از نظراثر عفونت ژنیتال برپارامترهای کیفی اسپرم بررسی شدند، نتیجه آنکه اختلال وکاهش قابل ملاحظه درحجم وسایرپارامترها درافراد مثبت در مقایسه با افراد سالم مشاهده شد. درضمن بیشترین اثرات منفی برروی پتانسیل باروری مرد، به اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم مربوط می شد. در تحقیق ما هم اثر عفونت های مورد نظربر اسپرموگرام مشهود بود (۲۰).

درپژوهشی دیگرکه در سال ۲۰۰۳ توسط Svenstrup HF وهمکاران انجام گرفت، در شرایط *In vitro* چگونگی انتقال مایکوپلاسماژنیتالیوم به زنان از طریق مردان آلوده بررسی شد. بدین شکل که نمونه اسپرم استریل همراه مایکوپلاسماژنیتالیوم انکوبه شد. پس از گذشت زمان لازم ، تحرک اسپرماتوزوئیدها به روش ایمونوفلورسانس آزمایش شد. در نتیجه معلوم شد که مایکوپلاسماها قادرند به سر، دم وبخش میانی اسپرماتوزوئیدها متصل و باعث بی حرکت شدن آنها شوند ولی تعداد کمی از آنها بدون آنکه باعث بی حرکت شدن اسپرماتوزوئیدها شوند، به آنها متصل شده واز آنها بعنوان ناقل استفاده می کنند.درتحقیق مانیز اثرات مخرب مایکوپلاسماها بر پارامترهای اسپرموگرام از جمله حرکت اسپرماتوزوئیدها مشخص می باشد (۷).

درتحقیق دیگری که درسال ۲۰۰۱ توسطRodringuer R و همکاران دراسپانیا انجام شد با بررسی۳۷۶ زوج نابارور ۴۷،۴درصد ازاین افراداپاتوژنهای مختلف داشتند که ازان میان ۲۳،۵درصد اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم و۴،۸درصد مایکوپلاسما هومینیس تشخیص داده شد (۳۱). گرچه آمار این تحقیق بانتایج مطالعه مامتفاوت است ولی نسبت کاهش موارد مایکوپلاسماهومینیس دربرابر اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم درهردوتحقیق مشابه است.

نتیجه گیری :

باتوجه به آمارهای موجود و درصد قابل توجه افراد آلوده به این میکروارگانیسمها ، بررسی باکتریولوژیک مردان نابارورمراجعه کننده به کلینیکهای ناباروری امری ضروری بوده و استفاده ازیک آزمایش مناسب که درزمان کوتاه وبادقت بالاوجود این پاتوژنها را درمجاری اوروژنیتال مردان آشکارسازد مفید بنظرمی رسد. باوجودیکه روش کشت در اکثر مواردبرای تشخیص باکتری ها توصیه می شود، اما با توجه به مشکلات موجود جهت کشت این باکتری ها این روش کمترمورد استفاده قرارمی گیرد. روش های ایمونولوژیک نیز محدودیتهای خاص خود رادارند. بنابراین باتوجه به دقت و حساسیت روشهای ملکولی ازجمله PCR، استفاده از این روش جهت تشخیص میکروارگانیسم های مذکور توصیه می گردد.

پیشنهادات:

باتوجه به لزوم تشخیص بموقع عفونتهای مایکوپلاسمایی جهت درمان آنها درمردان نابارور ، موارد زیرتوصیه می گردد:

۱- بررسی باکتریولوژیک مردان نابارور امری ضروری است.

۲- درصورت ابتلای مردبه عفونت اوروژنیتال، درمان همزمان وکامل زوجین بااستفاده ازآنتی بیوتیک های مناسب انجام شود.

۳-نمونه مناسب جهت بررسی این عفونتها درمردان نابارور بدون علامت، نمونه اسپرم می باشد.

۴-باتوجه به مشکلاتی چون زمان طولانی ومشکلات دیگر در روش کشت ونیز محدودیت روشهای ایمونولوژیک ، لزوم تشخیص سریع ودقیق آلودگی اسپرم بااستفاده ازروشهای نوین ملکولی مانندPCRمحرزمی گردد.

۵- آموزش همگانی درزمینه توجه بیشتربه بهداشت جنسی و پیشگیریهای لازم امری ضروری است .

تشکر و قدردانی:

بدینوسیله مراتب تشکروقدردانی خود را ازجناب آقای دکترعبدا...کریمی ریاست محترم مرکزتحقیقات عفونی اطفال وکلیه همکاران این مرکزکه ما را در انجام این تحقیق یاری نموده اند اعلام می نمایم.

فهرست مراجع:

۱- خلیلی م ، بررسی عفونت باکتریایی برروی کیفیت اسپرماتوزویید در مردان نابارور ، خلاصه مقالات چهارمین کنگره میکروبشناسی دانشگاه شاهد ، دانشکده پزشکی، آبان ۱۳۸۰ ، ص۴۹

۲- مظفری نور الف ، حریری ع ،سیفی م ، بررسی آلودگی مایکوپلاسمایی دستگاه ادراری- تناسلی آقایان ، خلاصه مقالات چهارمین کنگره میکروبشناسی دانشگاه شاهد، دانشکده پزشکی ، آبان ۱۳۸۰ ، ص۵۷.

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

4-Kjaergaard N, Kristensen B, Hansen ES, Farholt S, Schonheyder HC, Uldbjerg N Madsen H. microbiology of semen specimens from males Attending a fertility clinic. *APMIS*. 1997 ;**105(7):**566-570.

spermatozoa. *Human Reproduction*, 1998; 13(10)2756-2761

10-Rose BI , Scott B. Sperm motility , morphology , hyperactivation , and ionophore-induced acrosome reactions after overnight incubation with mycoplasma. *Fertil. Steril*, 1994; **61(2)**: 341- 348.

5-Corradi G, Molnar G, Panovics J, Lindeis ZF. Significant bacteriospermia value and limits of sperm count in andrology . *Orv Hetil.* 1992**; 25:** 133(43): 2759-2762, 2765-2766.

6-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.

7-Svenstrup HF, Fedder J, Abraham-Peskir J, Birkelund S, Christiansen G.
Mycoplasma genitalium attaches to human spermatozoa. *Human Reproduction*, 2003; **18(10)**: 2103 -2109.

8-Xu C, Sun GF, Zhu YF, Wang YF. The correlation of Ureaplasma urealyticum infection with infertility. *Andrologia*, 1997 ; **29(4):** 219-226.

9- Nunez-Calonge R, Caballero P, Redondo C, Baquero F, Martinez - Ferrer M, Meseguer MA. Ureaplasma Urealyticum reduces motility and induces membrane alteration in human

11- Gdoura R , Keskes- Ammar L , Bouzid F , Eb F , Hammami A , Orfila J . Chlamydia trachomatis and male infertility in Tunisia . *Eur J Contracept Reprod Health Care* , 2001 ;**6(2)** : 102-107.

12-Alexandre C , Siboulet A , Catalan F , Deubel V . Male infertility and mycoplasma infections . *Rev Fr Gynecol Obstet* , 1976; **71(10)** : 539 -541.
13-Cimino C , Borruso AR , Napoli P , Cittadini E . Evaluation of the importance of Chlamidia T . and / or Mycoplasma H . And/ or Ureaplasma U . genital infections and of antisperm antibodies in couples affected by muco- semen incompatibility and in couples with unexplained infertility . *Acta Eur Fertil* . 1993; **24(1)** : 13-17
14-Horner P, Thomas B, Gilroy CB, Egger M, Taylor-Robinson D. Role of Mycoplasma genitalium and Ureaplasma urealyticum in acute and chronic nongonococcal urethritis. *Clin Infec Dis*, 2001; **32(7):**995-1003.
15-Bornman MS, Mahomed MF, Boomker D, Schulenburg GW, Reif S, Crewe – Brown HH. Microbial flora in semen of infertile african men at Garankuwa hospital. *Andrologia*, 1990; **22(2):**118-121.
16-Taylor-Robinson D, Furr PM. Genital mycoplasma infections. *Wien Kiln Wochenschr*, 1997; 8;109(14-15): 578-83.
17-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.
18-Taylor-Robinson D. Mycoplasma genitalium- an up - date. *International J STD & AIDS* 2002 ; **13(3):**145-151.
19-Lluki N, Lebel P, Boucher M, Doray B, Turgeon J, Brousseau R. Comparison of polymerase chain reaction assay with culture for detection of genital mycoplasma in perinatal infection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 1998; **17**: 255-263.
20-Jalava J, Laurikainen E, Karkkainen U, Alanen A, Aaltonen R *et al.* Cervical Ureaplasma urealyticum colonization: comparison of PCR and culture for it's detection and association with preterm birth. Scand J Infect Dis, 2002;**34(1)**:35-40
21-Yoon BH, Romero R , lim JH , Shim SS , Hong JY. The clinical significance of detecting Ureaplasma urealyticum by PCR in the amniotic fluid of patients with preterm labor. *Am J Obstet Gynecol*, 2003; **189(4)**:919-924.
22-Levy R, Layani- Milon, D' Estaing G , Najioullah, Lornage, Aymard , et al. Screening for Chlamydia trachomatis and Ureaplasma urealyticum infection in semen from asymptomatic male partners of infertile couples prior in vitro fertilization. *Int J Androl*, 1999; **22(2):** 113-118.
23-Abele-Horn M wolff C ,Dressel P, Zimmermann A, vahlensieck W, Pfaff E *et al.* Polymerase Chain Reaction versus culture for detection of Ureaplasma urealyticum and Mycoplasma hominis in the urogenital tract of adults and the respiratory tract of newborns. Eur *J Clin Microbiol Infect Dis*. 1996; 15(2): 595-598.
24-Askienazy- Elbhar M . Male Genital infection: the point of view of the bacteriologist. *Gynecol Obstet Fertil.* 2005; **33(9):** 691-697.
25- Li HY and Liu JH. Influence of male genital bacterial infection on sperm function. Zhonghua Nan Ke Xue. 2002; **8(6)**: 442-444.

26-Keck C Gerber – Schafer C, Clad A, Wilhelm C . Seminal tract infections: impact on male fertility and treatment options. Hum Rep roduction Update. 1998; **4(6)**:891-903.
27-Diemer T Ludwig M, Huwe p ,Hales DB, weidner W. Influence of urogenital infection on sperm function . *Curr Opin Urol.* 2000; **10(1)**: 39-44.
28-Sanocka D, Frezek M, jdrzejczak P, Szuma – KKOLA, Kuripsz M. Male genital tract infection: an influence of leukocytes and bacteria on semen. *J Reprod. Immunology*. 2004; **62(1-2)**:111-24

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

30-Lu MG, shi JL and XUC. Establishment and application of the approach to detecting two biovars of Ureaplasma urealyticum in human semen. Zhonghua Nan Ke Xue. 2005; *11(3)* : 175-184.
31-Rodringuez R, Hernandez R, Fuster F, Torres A , Prieto P, Alberto j. Genital infection and infertility. Enferm Infecc Microbiol Clin . 2001; **19(6):** 261-266.