بررسی میزان شیوع آلودگی باکتریایی در نمونه سیمن مردان نابارور استان قم

مرضیه علوی[۱]، سید رضا طباطبایی[۲]، هدی فضائلی[۲]، ناصر کلهر[۳]، محسن شیخ حسن[۴]، مهدیه غیاثی[۵*]

[۱] دکترای زنان و زایمان، [۲] کارشناس ارشد زیست شناسی جانوری، [۳] کارشناس ارشد ژنتیک، [۴] کارشناس ارشد بیوتکنولوژی، [۵] کارشناس ارشد زیست سلولی و مولکولی

***نویسنده مسئول**

Email: mahdieh.ghiasi@yahoo.com

چکیده

مقدمه: طبق تعریف ناباروری عبارت است از عدم ایجاد حاملگی با وجود یک سال نزدیکی جنسی بدون استفاده از هر گونه وسیله ممانعت از بارداری. در حدود یک سوم یا ۵۰٪ موارد، ناباروری به علت فاکتوری مردانه اتفاق می‌افتد. عفونت می تواند به طور مستقیم یا غیر مستقیم مرد را دچار مشکل ناباروری کند. بعضی از باکتریها از طریق چسبیدن یا آگلوتیناسیون باعث بی‌حرکت شدن سلول‌های اسپرم می‌شوند. هدف از انجام این مطالعه بررسی شیوع آلودگی باکتریایی در جمعیت نابارور مردان استان قم است تا بدین وسیله اهمیت انجام تست‌های مورد نیاز جهت تشخیص سریع آلودگی در نمونه سیمن مشخص گردد.

مواد و روش‌ها: هر نمونه توسط خود بیمار در داخل ظرف استریل جمع آوری شد. جهت کشت و جداسازی گونه باکتریایی از لوپ استاندارد (۰/۰۰۱ml) استفاده و مایع منی بر روی محیط‌های EMB و آگار خون‌دار کشت داده می‌شد و پس از قرار دادن به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور، مورد مطالعه قرار می‌گرفت. چنانچه روی محیط کشت بیش از ۱×۱۰^{۳} عدد باکتری در یک میلی لیتر وجود داشت، کشت مثبت تلقی می‌شد.

نتایج: وجود باکتری در ۲۳ نمونه از مجموع ۷۶ نمونه مایع منی مردان نابارور تشخیص داده شد. به این ترتیب شیوع آلودگی باکتریایی در میان مردان نابارور استان قم۳۰/۲۶٪ تخمین زده شد.

بحث و نتیجه‌گیری: با توجه به شیوع نسبتا بالای آلودگی‌های باکتریایی لازم است غربالگری‌های میکروبی برای همه مردان نابارور به عنوان تست روتین در حضور یا غیاب لکوسیت‌ها در مایع منی، انجام گیرد و در صورت آلوده بودن به این باکتری‌ها ، درمان زوجین بصوررت همزمان صورت پذیرد.

کلمات کلیدی: آلودگی باکتریایی، کشت میکروبی، ناباروری

مقدمه

طبق تعریف ناباروری عبارت است از عدم ایجاد حاملگی با وجود یک سال نزدیکی جنسی بدون استفاده از هر گونه وسیله ممانعت از بارداری (۱). گزارشات جهانی بیانگر این واقعیت است که از هر پنج زوج یک زوج نابارور می باشد و علت یک سوم و گاهی ۵۰٪ موارد مربوط به عوامل مردانه می شود (۲،۳). از عوامل عمده مربوط به مردان می‌تواند به آسیب‌های اندام تناسلی ، عفونت‌های مایع منی، بیضه‌ها، مجاری تناسلی و غدد تناسلی ضمیمه، واریکوسل، انسداد مجاری تناسلی، بیماری-های اندوکرین و متابولیک اشاره نمود (۸-۴). عفونت می تواند به طور مستقیم موجب کاهش غیر طبیعی تعداد اسپرماتوزوئید مایع منی، کاهش تحرک و تغییرات مورفولوژی در اسپرم شود و در نتیجه قدرت باروری را کاهش دهد. همچنین تأثیر غیرمستقیم عفونت، آسیب به بیضه، التهاب و بدنبال آن تحریک سیستم ایمنی بر علیه آنتی ژن‌های خودی همراه با لکوسیتواسپرمی می باشد ، که همگی عواملی هستند که مرد را دچار معضل ناباروری می‌کنند (۱۲-۹).

چنانچه فرآیند عفونت باعث تخریب سد خونی-بیضه‌ای شود، منجر به تشکیل مقادیر قابل توجهی آنتی بادی ضد اسپرم می-گردد که در سرم و مایع منی قابل شناسایی‌اند (۱۳). بعضی از باکتریها نیز توسط چسبیدن یا آگلوتیناسیون باعث بی‌حرکت شدن سلول‌های اسپرم می‌شوند و این اثر، بستگی به تراکم باکتری‌ها در مایع منی دارد. باکتری‌های اشریشیاکلی و کلامیدیا تراکوماتیس باعث آگلوتیناسیون اسپرم‌ها میشوند و از سوی دیگر، اتصال باکتری‌ها به غشای سلولی اسپرم منجر به کاهش اتصال اسپرم به تخمک می‌گردد (۱۶-۱۴).

در شرایط فیزیولوژیک، لکوسیت‌ها در سراسر مجاری تناسلی مردان حضور دارند و تقریبا در هر نمونه منی یافت می‌شوند. مطالعات نشان داده‌اند که افزایش تعداد لکوسیت‌ها در مایع منی(لکوسیتواسپرمیا)، نقش مهمی در ایجاد ناباروری به دنبال عفونت‌های سیستم تناسلی در مردان ایفا می‌کند (۱۷). بر اساس معیارهای سازمان بهداشت جهانی، به غلظت بیش از یک میلیون لکوسیت در هر میلی لیتر مایع منی، لکوسیتواسپرمیا گفته می‌شود (۱۸). در این میان، لکوسیت‌های چند هسته‌ای تا ۵۰ تا ۶۰ درصد و ماکروفاژها 20 تا 30 درصد از لکوسیت‌های پراکسیداز مثبت مایع منی را تشکیل می‌دهند. لکوسیت‌ها یکی از منابع مهم گونه‌های واکنشگر اکسیژن در مایع منی به شمارمی‌روند .اینکه این سلول‌ها چگونه وارد لوله‌های منی‌ساز می شوند، به خوبی شناخته نشده است، اما مطالعات نشان داده‌اند که به دنبال عفونت، اتصالات محکم بین سلول‌های سرتولی از بین رفته و یا مقاومت آن‌ها کم می‌شود و لکوسیت‌ها به داخل لوله‌های منی ساز هجوم می‌آورند (۱۷، ۱۸، ۶).

ارتباط بین عفونت غدد ضمیمه‌ای و باروری کاهش یافته مردان به لحاظ علمی کاملا درک شده است و ابزار تشخیصی آن در دسترس است، با این حال درمان با استفاده از آنتی بیوتیک به منظور ایجاد باروری با نتایج ناامید کننده‌ای همراه بوده است. این مطلب احتمالا به دلیل برگشت ناپذیری آسیب های عملکردی ایجاد شده به دلیل عفونت یا التهاب مزمن است. بنابراین، جلوگیری، تشخیص سریع و درمان صحیح عفونت مجاری مردان از اهمیت بسزایی برخوردار است(۱۹).

هدف از انجام این مطالعه بررسی شیوع آلودگی باکتریایی در جمعیت نابارور مردان استان قم است تا بدین وسیله اهمیت انجام تست‌های مورد نیاز جهت تشخیص سریع آلودگی در نمونه سیمن مشخص گردد.

مواد و روش‌ها

جامعه مورد بررسی شامل ۷۶ مرد نابارور بود که طی ماه‌های فروردین و اردیبهشت سال ۹۳ به مرکز درمان ناباروری جهاد دانشگاهی استان قم مراجعه کرده بودند و با انجام معاینات و آزمایشات خاص (از جمله اسپرموگرام) ناباروری آنها توسط پزشک متخصص آندرولوژی ثابت شده بود و دارای شرایطی از قبیل: ۱) عدم وجود هرگونه علائم بالینی مربوط به عفونت‌های مجاری ادراری- تناسلی و عدم دارا بودن عوارضی مانند واریکوسل و ۲) عدم قرار گرفتن در معرض مواد توکسیک و عدم مصرف آنتی بیوتیک تا یک هفته قبل از نمونه‌گیری، بودند. (لازم به ذکر است که قبل از نمونه گیری، فرم اعلام رضایت توسط تمام بیماران امضا شد.)

هر نمونه توسط خود بیمار در داخل ظرف استریل جمع آوری شد. قبل از نمونه گیری از بیماران خواسته شد که ادرار کنند و دست‌ها، آلت و بیضه خود را با آب و صابون بشویند تا بدین وسیله احتمال انتقال باکتری‌های هم سفره پوست به داخل نمونه مایع منی به حداقل برسد.

جهت کشت و جداسازی گونه باکتریایی از لوپ استاندارد (۰/۰۰۱ml) استفاده و مایع منی بر روی محیط‌های EMB و آگار خون‌دار کشت داده می‌شد و پس از قرار دادن به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور، مورد مطالعه قرار می‌گرفت. چنانچه روی محیط کشت بیش از ۱×۱۰^{۳} عدد باکتری در یک میلی لیتر وجود داشت، کشت مثبت تلقی می‌شد.

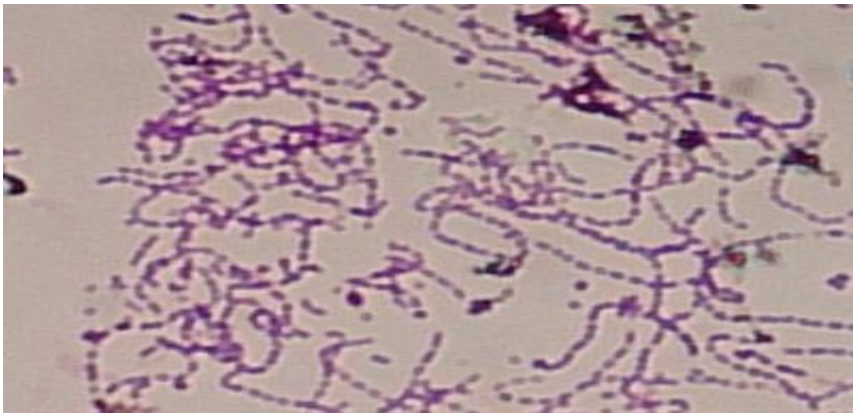
علاوه بر این، وجود لکوسیت‌ها هم از طریق انجام رنگ آمیزی پراکسیداز مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج

وجود باکتری در ۲۳ نمونه از مجموع ۷۶ نمونه مایع منی مردان نابارور تشخیص داده شد. به این ترتیب شیوع آلودگی باکتریایی در میان مردان نابارور استان قم۳۰/۲۶٪ تخمین زده شد. با توجه به اینکه لکوسیتواسپرمی در صورت وجود $۱۰^{۶}$ لکوسیت به ازای هر میلی لیتر به اثبات می‌رسد، هیچ مورد مثبتی در این خصوص یافت نشد.

بحث و نتیجه‌گیری

شکل ۱: باکتری **E.coli** با استفاده از رنگ آمیزی گرم



شکل ۲: باکتری استرپتوکوکوس اورئوس با استفاده از رنگ آمیزی گرم

بر اساس مطالعاتی که تاکنون صورت گرفته است، عفونت‌های باکتریایی و پاسخ‌های متعاقب سیستم ایمنی یکی از عوامل مهم ایجاد ناباروری در مردان است .این عفونتها بر قسمت‌های مختلف سیستم تولید مثل مردان مثل بیضه‌ها، اپیدیدیم، و

غدد تناسلی ضمیمه اثر می‌گذارند. بنابراین، این عفونت‌ها در مراحل مختلف تکامل، بلوغ و انتقال بر کیفیت اسپرم‌ها اثرات سوء بر جای گذاشته و از این طریق منجر به کاهش توانایی باروری و در نتیجه، افزایش احتمال ناباروری می‌شوند.

در مطالعات قبلی تخمین زده شده که ۱۵٪ از ناباروری‌های مردانه مربوط به عفونت مجرای جنسی هستند (۶). Moretti و همکاران در مطالعه ای که روی تاثیر عفونت‌های باکتریایی بر کیفیت سیمن انجام دادند ، شیوع ۳۳/۲٪ را گزارش دادند (۲۰) که همسو با نتایج بدست آمده در مطالعه حاضر است. از طرفی در مطالعه‌ای که در استان العنبر عراق توسط الجنابی و همکارانش انجام گرفت، گزارش شده که ۶۸٪ مردان نابارور از لحاظ کشت میکروبی باکتری‌های پاتوژن، مثبت بوده‌اند(۲۱) که این آمار به مراتب از میزان شیوع آلودگی باکتریایی در قم بیشتر است. این تناقض در گزارشات می‌تواند به واسطه عواملی از قبیل 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.

در این مطالعه هیچ مورد لکوسیتواسپرمی در نمونه‌های باکتریایی مشاهده نشد. به گونه‌ای مشابه در مطالعه‌ای که توسط دکتر امیر مظفری در پژوشکده رویان انجام شد هیچگونه ارتباط معنی‌داری بین لکوسیت‌ها در مایع منی و نتیجه حاصل از کشت یافت نشد (۲۲). همچنین در بسیاری از مطالعات نشان داده شده که وجود لکوسیت در مایع منی شاخص قابل اعتمادی برای پیش‌بینی عفونت‌های مایکو پلاسمایی نمی‌باشد (۲۵-۲۳). با توجه به این مطلب و همچنین شیوع نسبتا بالای آلودگی‌های باکتریایی لازم است غربالگری‌های میکروبی برای همه مردان نابارور به عنوان تست روتین در حضور یا غیاب لکوسیت‌ها در مایع منی، انجام گیرد و در صورت آلوده بودن به این باکتری‌ها ، درمان زوجین بصورت همزمان صورت پذیرد.

References

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

2-Berger R.E., Karp L.E., Williamson R.A., Koehler J., Moore D.E., Holmes K. The relationship of pyospermia and seminal fluid bacteriology to sperm function as reflected in the sperm penetration assay. Fertil Steril 1982;37:557-64.

3-Khalili M.A., Pourshafie M.R., et al. Bacterial infection of the reproductive tract of infertile men in Iran. Mid East Fertil Soc J. 2000;5(2):126-31.

4 La Vignera S, Condorelli R, Vicari E, D'Agata R, Calogero AE. Diabetes mellitus and sperm parameters. J Androl. 2012 Mar-Apr;33(2):145-53.

5. Saleh RA, Agarwal A. Oxidative stress and male infertility: from research bench to clinical practice. J Androl. 2002 Nov-Dec;23(6):737-52.

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

7. Skakkebaek NE, Giwercman A, de Kretser D. Pathogenesis and management of male infertility. Lancet. 1994 Jun 11;343(8911):1473-9.

8. Baazeem A, Belzile E, Ciampi A, Dohle G, Jarvi K, Salonia A, et al. Varicocele and male factor infertility treatment: a new meta-analysis and review of the role of varicocele repair. Eur Urol. 2011 Oct;60(4):796-808.

9. Khalili M.B., Sharifi M.K. The effect of bacterial infection on the quality of human's spermatozoa. Iranian J pub Health 2001;35:62-7.

10. Shalika S., Dugan K., Smith R.D., Padilla S.L. The effect of positive semen bacterial and ureaplasma cultures on in-vitro fertilization success. Hum Reprod. 1996;11(12):2789-92.

11. McGowan M.P., Burgher H.G., Baker H.W.G. The incidence of non-specific infection in semen in fertile and sub-fertile men. Int J Androl. 1982;4:657-62.

12. Bukharin O.V., kuzmin M.D., Ivanov I.U.B. The role of the microbial factor in the pathogenesis of male infertility. Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol. 2000;2:106-10.

13. Jarow JP, Kirkland JA, Jr., Assimos DG. Association of antisperm antibodies with chronic nonbacterial prostatitis. Urology. 1990 Aug;36(2):154-6.

14. Auroux MR, Jacques L, Mathieu D, Auer J. Is the sperm bacterial ratio a determining factor in impairment of sperm motility: an in-vitro study in man with Escherichia coli. Int J Androl. 1991 Aug;14(4):264-70.

15. Monga M, Roberts JA. Spermagglutination by bacteria: receptor-specific interactions. J Androl. 1994 Mar- Apr;15(2):151-6.

16. Wolner-Hanssen P, Mardh PA. In vitro tests of the adherence of Chlamydia trachomatis to human spermatozoa. Fertil Steril. 1984 Jul;42(1):102-7.

17. Saleh RA, Agarwal A, Kandirali E, Sharma RK, Thomas AJ, Nada EA, et al. Leukocytospermia is associated with increased reactive oxygen species production by human spermatozoa. Fertil Steril. 2002 Dec;78(6):1215-1224.

Introduction: Infertility is defined as the prevention of pregnancy despite a year of sexual intercourse without the use of any means of preventing pregnancy. In about one-third or 50% of cases, male factor is responsible. Infection may be directly or indirectly cause infertility problem for men. Some of bacteria prevent sperm motility through attaching to sperm or causing agglutination. The aim of this study is to examination the prevalence of bacterial contamination in infertile men population of Qom province in order to show the importance of applying acquired tests to quick detect of contamination in semen sample.

Material and methods: Every sample was collected by the patient himself in a sterile bottle. In order to collection and isolation of bacterial species standard loop (0.001 ml) was used and semen was cultured on EMB and blood agar mediums. Then they were studied after placing in incubator for 24 hours. If more than 1×10^3 bacteria/ ml were detected, the sample regarded as positive.

Results: The existence of bacteria in 23 sample of 76 semen specimen of infertile men was detected. As a result bacterial contamination prevalence among infertile men of Qom was estimated about 30.26%.

Discussion and conclusion: Regarding the relative high prevalence of bacterial contamination, it seems to be necessary to apply microbial screening for all infertile men as a routine test in presence or absence of leukocyte in semen sample and if the sample was contaminated by bacteria, isochronal treatment should be done for couple.

Key words: Bacterial contamination, Microbial culture, Infertility