عزل وتشخيص جرثومة *Staphylococcus aureus* من عينات الإدرار والسائل المنوي ودراسة علاقتها بحالة عدم الإخصاب عند الرجال

بشرى علي كاظم
كلية التمريض–جامعة بغداد

علي قاسم سعيد
دائرة صحة بغداد الرصافة –وزارة الصحة
AliKassem@Yahoo.com

الخلاصة

جمعت (٥٠) عينة من السائل المنوي و(٥٠) عينة من الإدرار من الرجال الذين يعانون من حالة عدم الخصوبة والمراجعين لمستشفى الامام علي (ع) ومستشفى بغداد التعليمي للفترة من ٢٠١٢/١٢/٢٥ولغاية ٢٠١٤/٦/٣٠، وزرعت هذه العينات لعزل الأحياء المجهرية ، فضلاً عن ان هذه العينات اخضعت للفحص العام واجراء التعداد الكلي للنطف بالنسبة لعينات السائل المنوي . أظهرت الدراسة عزل مجموعة من الأحياء المجهرية من هذه العينات مثل *Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli* و *Candida albicans* وبنسب عزل تراوحت مابين ٣٢.٥– ٣٦% و ٢٤– ٢٥% و ٢٠– ٣٠% على التوالي ، فضلاً عن عزل جراثيم اخرى مختلفة . بينت نتائج الفحص العام للعينات وجود الخلايا القيحية والخلايا الطلائية وبنسب مختلفة ، فضلاً عن وجود انخفاض في عدد النطف الفعالة في ٧٢% من عينات السائل المنوي . أظهرت نتائج قياس المؤشرات الكيموحيوية في الفئران المختبرية ارتفاعاً ملحوظاً في تراكيز اليوريا والكرياتنين فيما قابلها إنخفاضاً في تراكيز الهرمونات (التيستوستيرون والمحفز للجريبات) ، ما يشير إلى وجود خلل في وظائف الجسم في الفئران المحقونة بالعزلتين S_1 وS_2 ، كما أظهرت نتائج التحليل الإحصائي عدم وجود فروق معنوية بين العزلتين في تأثيرها على الفئران عند مستوى احتمالية $P\leq 0.05$.

الكلمات المفتاحية : *S. aureus* ، عدم الخصوبة .

Abstract

Fifty samples of urine and fifty samples of seminal fluid were collected from infertile men in Al-Imam Ali Hospital and Educational Baghdad Hospital during 25\12\2012 untile 30\6\2014, these samples had been cultured to isolate the microorganisms , as well as , the general examinations had applied on these sample , also the total count of sperm done on samples of seminal fluid . The study demonstarted isolation a groups of microorganisms from these samples such as *S. aureus* , *E.coli* and *C. albicans* with percentage between 32.5 – 36 % , 24 – 25 % and 20 – 30 % respectively , as well as , isolation of other different bacteria . The results of general examination of samples showed the presence of pus and epithelial cells with different percentages , besides this , the results of this study showed decrease in the number of active sperms in 72 % of seminal fluid samples . The results of measurements of biochemical markers in experimental animals showed increasing of urea and creatinine concentrations while decreasing of Testosterone and follicle stimulating hormones as a marker of presence of defect on body functions of mice which were inoculated with isolates S_1 and S_2 and the results of statistical analysis showed there is no significant differences between these isolates in their affect on mice at probability level $P\leq 0.05$.

Key words :- *S. aureus* , Infertility .

المقدمة

تُعد حالة عدم الخصوبة عند الرجال والنساء على حد سواء من المشاكل المهمة التي يعانون منها إذ ازدادت في السنوات الأخيرة زيادة ملحوظة ، وتعرف هذه الحالة بأنها عدم القدرة وفشل الازواج في الحصول على حمل ناجح بعد المحاولة لسنة او اكثر [Insel and Roth,2004] ويتعلق حدوث هذه الحالة بالنساء بنسبة ٤٠% منها بالرجال فيما تعود نسبة ٤٠% منها بالرجال في حين تعود نسبة ٢٠% منها إلى كلا الزوجين [Mader,2007] . ويُعزى حدوث حالة عدم الخصوبة لأسباب عديدة فقد تعود أسبابها في النساء إلى انسداد انابيب فالوب وفشل التبويض والتشوهات الخلقية في الرحم وإلى حدوث امراضاً مختلفة منها التهاب بطانة الرحم والمهبل والأمراض المنتقلة جنسياً بين الازواج ومنها مرض السفلس والسيلان الجنسي فضلاً عن التهابات المسالك البولية [Ross and Ison,2006 ، Dean, 2006] ، فيما تعزى حالات عدم

الخصوبة في الرجال إلى قلة عدد النطف وإلى فقدان حركتها وفعاليتها وكثرة عدد النطف المشوهة وغير الطبيعية وإلى الانسداد في الانابيب الناقلة والتهاب غدة البروستات فضلاً عن الالتهابات في الإحليل والكلية التي تؤثر تاثيراً مباشراً على وظائف الجهاز التناسلي [Anderson and ، Shahmanesh and Radcliff,2007 Stall,2002، Collins *et al.*,2002] ، كما أن هناك عدداً من عوامل الخطورة التي تزيد من حدوث هذه الحالة منها التدخين وتعاطي الكحول والتعرض للمواد الكيماوية السامة وإلى الاشعاع فضلاً عن ان ارتفاع درجة حرارة الجسم يؤدي إلى التأثير على عملية صنع النطف ونضوجها في الخصية والبربخ [Bouyer *et al.*,2003 ،Cooper,2002 ،Otsuka,2001]، وتعالج حالة عدم الخصوبة اما بالتداخل الجراحي او باستعمال الادوية الحاوية على الهرمونات التي تنشط عملية صنع وتكوين النطف وقد يلجأ المريض إلى التلقيح الاصطناعي عند فشل المعالجة [Glasier,2002 ،Bungum *et al.*,2004 ،Meng *et al.*,2005 ،Foresta *et al.*,2005]. وتعد التهابات المسالك البولية والتناسلية من الأسباب الأساسية الشائعة لحدوث حالة عدم الخصوبة وتحدث نتيجة لغزو الجهازين البولي والتناسلي من أنواع مختلفة من الجراثيم ومنها : *Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli* و *Klebsiella* وغيرها ، إذ تعمل هذه الجراثيم بما تملكه من عوامل ضراوة وانزيمات على التأثير على الوظيفة الفسيولوجية للجهازين البولي والتناسلي مسببة حدوث حالة عدم الخصوبة ومن ثم العقم في حالة عدم العلاج [Hua and Schaeffer,2004، Eley *et al.*,2005 ، Moi *et al.*,2009 ، Jensen,2009]. ونظراً لتزايد حالات عدم الخصوبة عند الرجال وحسب احصائيات وزارة الصحة العراقية ولأهمية الموضوع لذا ارتأينا في هذا الجهد المتواضع تسليط الضوء على أهم الاسباب المؤدية إلى عدم الخصوبة ألا وهي التهابات المسالك البولية والتناسلية وبيان هذا التأثير من خلال عزل الجراثيم المسببة لها والمتواجدة في عينات الإدار والسائل المنوي ودراسة واثبات علاقة هذه الجراثيم بحالة عدم الخصوبة في الرجال .

المواد وطرق العمل

جمعت (٥٠) عينة من السائل المنوي بطريقة معقمة من الرجال الذين يعانون من حالة عدم الخصوبة والمراجعين لوحدة الجراحة البولية في مستشفى الامام علي (ع) في مدينة الصدر ببغداد ومستشفى بغداد التعليمي ، كما جمعت (٥٠) عينة إدرار من المرضى ذاتهم وبطريقة معقمة أيضاً ، أجريت على هذه العينات الفحوصات الآتية :

١. الزرع : زرعت العينات (الإدرار – السائل المنوي) على وسطي أكار الدم وأكار الماكونكي وحضنت الاطباق بدرجة ٣٧ °م لمدة (٢٤ ساعة) لغرض عزل الأحياء المجهرية المسببة للالتهاب ، ثم نقيت هذه الأحياء وشخصت بأجراء الاختبارات الشكلية والكيموحيوية وحسب ماجاء في [Forbes *et al.*,2002] .
٢. إجراء الفحص العام لعينات الإدرار والسائل المنوي وسجلت النتائج [Wilson and Gaido,2004، Mclachlan *et al.*,2003] .
٣. إجراء التعداد الكلي للنطف باستعمال العد بالهيموسايتومتر [WHO,2000] .

إنتخاب العزلات الجرثومية

بعد زرع العينات شخصت الجراثيم التي ظهرت وأنتخبت عزلات الجراثيم التي عزلت بنسبة مئوية أعلى من غيرها وكانت الممرض السائد لكلا الالتهابات (البولية والتناسلية) في هذه الدراسة التي عزلت من الإدرار والسائل المنوي ، حيث كانت هذه العزلات تابعة لجرثومة *Staphylococcus aureus* ، حيث أختيرت عزلتين منها الأولى عزلت من عينة الإدرار (S_1) والثانية عزلت من عينة السائل المنوي (S_2)، حضر من هذه العزلات التخفيف 10^{-8} الذي أستخدم في حقن الفئران المختبرية [Morello *et al.*,2006] .

قياس المؤشرات الكيموحيوية في الفئران :

أستخدمت ثلاث مجاميع من ذكور الفئران البيض ذات وزن يتراوح بين (٢٥ و٣٠) غم وبمعدل عمر (٩) أسابيع إذ ْ تميزت بصحة جيدة و كل مجموعة تحتوي على (٦) فئران ، حقنت المجموعة الاولى بـ(٠.٥مل) من المعلق الجرثومي للعزلة (S_1) والمجموعة الثانية حقنت بـ(٠.٥مل) من المعلق الجرثومي للعزلة (S_2) أما المجموعة الثالثة فأعتبرت مجموعة سيطرة وحقنت بـ(٠.٥ مل) من المحلول الملحي الفسيولوجي ، جميع الفئران حقنت في البريتون وتركت (٧) أيام ، بعدها تم التضحية بالفئران وجمعت عينات الدم منها بوساطة طعنة القلب ، ومن ثم وضع الدم في أنابيب أبندروف وترك ليتخثر بعدها فصل المصل بأستخدام جهاز الطرد المركزي الخاص وبسرعة ٣٠٠٠ دورة / دقيقة لمدة ١٥ دقيقة ، أخذ المصل واستعمل لغرض قياس مستوى تركيز المؤشرات الكيموحيوية (اليوريا U ، الكرياتنين C ، هرمون التيستوسيترون T ، والهرمون المحفز للجريبات (FSH) بأستخدام العدد Kits الخاصة والمجهزة من شركة Biomeriux الفرنسية .

التحليل الإحصائي

عبر عن النتائج بشكل (المعدل $\pm$ الخطأ القياسي) من خلال تحليل النتائج إحصائياً بأستخدام برنامج التحليل الإحصائي الجاهز (SPSS) ، أما معنوية الفروق بين المعدلات فأختبرت بأستعمال إختبار دنكن عند مستوى إحتمالية $P \leq 0.05$ [Arawi,2000] .

النتائج والمناقشة

جمعت عينات الإدرار والسائل المنوي من الرجال الذين يعانون من عدم الخصوبة وزرعت هذه العينات كما أجري لها الفحص العام وقد أظهرت نتائج الزرع في حالة عينات الإدرار عزل مجموعة من الأحياء المجهرية إذ ْ كانت الغلبة لجرثومة *Staphylococcus aureus* والتي عزلت بنسبة ٣٦% تليها *Escherichia coli* و *Candida albicans* و *Proteus mirabilis* و *Pseudomonas aeruginosa* وبنسب عزل ٢٤% و ٢٠% و ١٠% و ٦% على التوالي فيما نجد أن جرثومة *Klebsiella* تحتل المرتبة الاخيرة من نسب العزل اذ عزلت بنسبة ٤% . أما في حالة عينات السائل المنوي فقط أظهرت النتائج عزل مجموعة من الأحياء المجهرية منها جرثومة *S. aureus* والتي احتلت المرتبة الاولى في دراستنا هذه اذ عزلت بنسب٣٢.٥% تليها *C.albicans* و *E.coli* و *S. epidermidis* وبنسب عزل ٣٠% و ٢٥% و ١٢.٥% على التوالي وتجدر الإشارة إلى أن ١٠ عينات من أصل ٥٠ عينة من السائل المنوي لم تظهر نتيجة موجبة للزرع وعليه من نتائج الزرع لعينات الإدرار والسائل المنوي يتبين أن هؤلاء الرجال الذين يعانون من حالة عدم الخصوبة أن ١٠٠% منهم كان مصاباً بألتهاب المسالك البولية فيما كان ٨٠% منهم مصاباً بالتهاب المسالك التناسلية لكون الإدرار والسائل المنوي من السوائل الجسمية المعقمة في الحالة الطبيعية وعزل هذه الجراثيم منهما يشير إلى وجود حالة الألتهاب وقد تكون قسماً من هذه الاصابات غير

ظاهرة الأعراض ، كما تشير النتائج إلى أن حالة عدم الخصوبة لدى هؤلاء قد تكون مؤقتة وكعرض ثانوي لحالة التهاب المسالك البولية والتناسلية التي تعد من المسببات الرئيسة لحالات العقم وعدم الخصوبة في الرجال والنساء على حد سواء [Defrancesco *et al.*,2010، Weidner ,2000،Li and Liu,2002]، فضلاً عن أن مجموعة الأحياء المجهرية المعزولة في دراستنا هذه معروفة بضراوتها العالية ، إذ تملك من عوامل الضراوة مايساعدها في غزو الجهاز البولي والتناسلي مثل خاصية الألتصاق والأنزيمات الخارجية وغيرها ما يجعلها تؤدي إلى خلل في وظائف الجهازين البولي والتناسلي والتأثير بصورة واضحة على الوظيفة الفسيولوجية للجهاز التناسلي في أنتاج وصنع النطف السليمة والتي لها القدرة على إحداث حمل ناجح ، لذا تعد إلتهابات المسالك البولية والتناسلية سبباً رئيساً لإحداث حالة عدم الخصوبة وبالتالي العقم في الرجال وهذه النتائج تتفق مع [Vogt,2005 ، Manavi *et al.*,2006] ، إذ إنَّ وجود الأحياء المجهرية الممرضة في السائل المنوي خاصة يؤدي إلى عرقلة حركة النطف وإختزال عدد النشطة منها وتجميعها ما يؤثرفي عملية الإخصاب بشكل مباشر، حيث وجد أنَّ قسماً من هذه الأحياء المجهرية الممرضة ينتج مايسمى عامل عرقلة النطف (SBF) Sperm Brake Factor وهو عامل ذو وزن جزئي واطيء يتراوح Mw500 ، هذا العامل يعمل على الألتصاق بالنطف وتحديد وتعطيل حركتها ، كما وجد أن بعضاً من أنواع البكتريا مثل *K. pneumoniae* تتداخل مستضداتها السطحية وتتفاعل مع النطفة ولاسيما الرأس والذيل مما يحد من حركتها وقيامها بوظيفتها الطبيعية في مهاجمة خلايا البيضة وإحداث عملية الإخصاب ، كما أن وجود البكتريا في السائل المنوي يعمل على التأثير على عملية أنتاج النطف بصورة مباشرة والتأثير على عملية نضج النطف في البربخ ، فضلاً عن أن وجود الأهداب في البكتريا يؤدي إلى التداخل ولف وطي ذيل النطف (entanglment) ما يزيد من فرصة حدوث حالة عدم الأخصاب في الرجال [Guzick *etal.*,2001، Dukharin *etal.*,2003 ، Sanack *etal.*,2005 ، Esfandiar *etal.*,2002]، والجدولان (١ و ٢) يوضحان هذه النتائج .

الجدول رقم (١) الأحياء المجهرية المعزولة من عينات الإدرار

الكائن المجهري	عدد العزلات	النسبة المئوية للعزل
Candida albicans	١٠	٢٠
Staphylococcus aureus	١٨	٣٦
Pseudomonas aeruginosa	٣	٦
Klebsiella ssp.	٢	٤
Proteus mirabilis	٥	١٠
Escherichia coli	١٢	٢٤
المجموع الكلي	٥٠	١٠٠

الجدول رقم (٢) الأحياء المجهرية المعزولة من عينات السائل المنوي

الكائن المجهري	عدد العزلات	النسبة المئوية للعزل
Staphylococcus aureus	١٣	٣٢.٥
Escherichia coli	١٠	٢٥

Candida albicans	١٢	٣٠
Staphylococcus epidermidis	٥	١٢.٥
المجموع الكلي	٤٠	١٠٠

وفيما يخص الفحص العام للأدرار والسائل المنوي فقد بينت نتائج دراستنا هذه وجود الخلايا القيحية والطلائية وبنسبة ٩٠% و ١٠٠% على التوالي في عينات الإدرار ، أما في عينات السائل المنوي فقد كانت نسبتها ١٠٠% و ٨٦% على التوالي ، وإن وجود هذين النوعين من الخلايا يشير أشارة واضحة إلى وجود حالة ألتهاب المسالك البولية والتناسلية في المرضى قيد الدراسة حيث تعمل الخلايا القيحية على تحفيز وتحرير أنواع الاوكسجين الفعال الذي يؤدي إلى تثبيط حركة وظيفة النطف وهذه النتيجة تتفق مع نتائج الزرع التي حصلنا عليها في هذه الدراسة ، أما فيما يخص التعداد الكلي للنطف فقد أشارت النتائج إلى أنَّ جميع العينات كانت ضمن المعدل الطبيعي فقد كانت ٦٠% من العينات تحوي ٣٠- ٤٥× ١٠ ٦ خلية/ مل ، فيما كانت ٤٠% من العينات تحوي ٥٠- ٨٠ × ١٠ ٦ خلية /مل وجميع هذه النتائج تقع ضمن المعدل الطبيعي والذي هو اكثر من ٢٠×١٠ ٦ خلية/مل [Wiggins *etal.*,2000، Rodin *etal.*,2003 ، Golshani *etal.*,2006] ، أما فيما يخص تعداد النطف الفعالة Active فقد أظهرت النتائج أن ٧٢% من العينات كانت نسبة الفعالة فيها مابين ١٠-٢٠% وهذه نسبة عالية جداً وهذا يشير إلى وجود انخفاضاً في أعداد النطف النشطة وقد يكون هذا نتيجة لحالة وجود ألتهاب المسالك البولية والتناسلية ، فيما كانت ٢٨% من العينات تعداد النطف النشطة فيها يتراوح ما بين ٥٠ – ٦٠% علماً أن المعدل الطبيعي ٣٥% فما فوق للحكم على العينة بأن تعداد النطف الفعالة فيها يقع ضمن المدى الطبيعي [Hua and Schaeffer,2004، Jorgensen *et al.*,2001] ، كما لوحظ من النتائج وجود ١٠ – ٢٠% من النطف غير الطبيعية abnormal sperms في ٨٠% من العينات وهذا ايضاً ضمن المدى الطبيعي لكن اذا زادت النسبة إلى أكثر من ٢٠ او ٣٠% فأن الحالة تستوجب الوقوف عندها لأن وجود نسبة عالية من النطف غير الطبيعية يعد عاملاً رئيساً في حدوث حالة عدم الاخصاب والعقم في الرجال [Larson *et al.*,2000، Swan *et al.*,2003] .

ولإيضاح تاثير الجراثيم المعزولة من الإدرار والسائل المنوي على حالة عدم الأخصاب فقد أختيرت العزلتين S_1 والتي تمثل جرثومة *S. aureus* المعزولة من عينات الإدرار و S_2 والتي تمثل جرثومة *S. aureus* المعزولة من عينات السائل المنوي لحقنها في ذكور الفئران المختبرية ولقياس هذا التأثير فقد أجري قياس تركيز اليوريا والكرياتنين وهرمون والتيستوستيرون والهرمون المحفز للجريبات في مصل دم الفئران وقد أظهرت النتائج أرتفاع مستوى تركيز اليوريا والكرياتنين في مصل دم ذكور الفئران المحقونة بالعزليتن S_1 , S_2 مقارنة بمجموعة السيطرة ما يشير إلى حدوث خلل في عمليات هدم البروتين ونقصان في معدل ترشيح كبيبات الكلية ووجود حالتي التهاب الكلية والمجاري البولية والمعروف أن قيم اليوريا والكرياتنين تزداد في عدد من الحالات المرضية منها الجفاف وقصور الكلية الحاد والإنسداد المعوي والبروستاتي [Brag *etal.*,2002 ، Marshall,2000] علماً أنه لاتوجد فروق معنوية عند مستوى إحتمالية $P \leq 0.05$ بين العزلتين S_1 , S_2 في تأثيرها فالعزلتان أستطاعتا إحداث الالتهاب وزيادة قيم اليوريا والكرياتنين ، أما فيما يخص قياس تركيز الهرمونين (التيستوستيرون والمحفز للجريبات) فقد أظهرت النتائج أنخفاضاً واضحاً في

مستوى تركيزي هذين الهرمونين في مصل دم الفئران المحقونة بالعزلتين S_1, S_2 مقارنة بمجموعة السيطرة ما يشير إلى حدوث حالة عدم الاخصاب ومن ثم العقم في الفئران المحقونة نتيجة لإنخفاض تركيز هذه الهرمونات ومن المعروف أن لهذين الهرمونين دوراً كبيراً ورئيساً في الخصوبة إذ° أنَّ هذه الهرمونات تحفز صنع وتكوين النطف وتساعد على إدامة الصفات الجنسية والمساهمة في عملية التكاثر [Dieudonne *et al.*,2001] ، كما لوحظ عدم وجود فروق عند مستوى إحتمالية $P \leq 0.05$ بين العزلتين S_1 , S_2 في تأثيرها على تركيز هذين الهرمونين فكلتاهما أدى إلى أنخفاض واضح في تراكيز تلك الهرمونات في مصل دم الفئران التجريبية المحقونة بهما ، والجدول رقم (٣) يوضح هذه النتائج ، وعليه نستنتج أن وجود الأحياء المجهرية الممرضة في عينات الإدرار والسائل المنوي يشير إلى وجود حالة إلتهاب المسالك البولية والتناسلية التي تأثر تاثيراً واضحاً في عملية الاخصاب.

الجدول رقم (٣) المعدل ± الخطأ القياسي لتراكيز اليوريا والكرياتنين وهرموني التيستوستيرون والمحفز للجريبات في مصل دم ذكور الفئران البيض المحقونة بالعزلتين S_1 , S_2

المجموعة	اليوريا U Mg / di	الكرياتين C Mg / dl	التيستوستيرون T mlu / ml	المحفز للجريبات FSH mlu / ml
الاولى المحقونة بالعزلة S_1	^{a} 3.41 ± 57.1	^{a} 1.21 ± 4.9	^{a} 3.02 ± 28.21	^{a} 0.02 ± 0.30
الثانية المحقونة بالعزلة S_2	^{a} 3.33 ± 52.7	^{a} 1.03 ± 4.3	^{a} 3.2 ± 29.2	^{a} 0.03 ± 0.28
الثالثة السيطرة المحقونة بالمحلول الفسيولوجي	^{b} 2.35 ± 30.1	^{b} 0.21 ± 1.5	^{b} 2.18 ± 48.30	^{b} 0.02 ± 0.53

الحروف المتشابهة تعني عدم وجود فرق معنوي عند مستوى إحتمالية $P \leq 0.05$.

الحروف المختلفة تعني وجود فرق معنوي عند مستوى إحتمالية $P \leq 0.05$.

المصادر

Anderson , J.E. and Stall , R. (2002) . Increased reporting of male to male sexual activity in national survey . Sex . Transm . Dis . 29(11) : 643 – 646 .

Arawi , K.M. (2000) . Introduction to Statistics . 2 nd ed .

Bouyer , J. ; Elgen , I.K. and Fink , K. (2003). Risk factors for ectopic pregnancy : A comprehensive analysis based on a large case control. Americ . J. Epidemio . 157(3) : 185 – 194 .

Brag , J.M. ; Tymorzka , J.L. and Stryer , L. (2002) . Biochemistry . 5 th ed . W.H. Freeman and company .

Bukharin , O.V. ; Kuzmin , M.D. and Ivanov , I. (2003) . The role of microbial factor in the pathogenesis of male infertility . Zh . Microbiol . Epidemiol . Immun . Biol . 5(2) : 106 – 116 .

Bungum , M. ; Humaidan , P. and Spano , M. (2004) . The predictive value of sperm Chromatin structure assay parameters for the outcome of intrauterine insemination , IVE and ICSI .J. Hum . Reprod . 19 : (1401 – 1411) .

Collins , S. ; Diseker , R. and Dole , N. (2002) . Effects of circumcision on male sexual function . J. Uro . 167 : 2111 – 2112 .

Cooper , M.L. (2002) . Alcohol use and risky sexual behavior among college students and youth : evaluating and evidence .J. Stud . Alcoh. 63(2) : 5101 – 5117.

Dean , G.L. (2006) . Near – patient testing will not improve the control of sexually transmitted infections . Sex . Transm . Infect . 82 : 509 – 521 .

Defrancesco , M.A. ; Negrini , R. ; Ravizzola , G. ; Galli , P. and Manca , N. (2010) . Bacterial species present in the lower male genital tract : A five year retrospective study . Europe . J. Contracep . Reprod . Health Care . 5 (6) : 320 – 330 .

Dieudonne , O. ; Godin , P.A. and Vanlangendonckt, A. (2001) . Biochemical analysis of sperm and infertility . Clin. Chem. La. Med., 39 : 455 – 464 .

Eley , A.; Pacey , A.A. and Galdiero, M. (2005) . Can *Chlamydia trachomatis* directly damage your sperm . Lancet . Infect . Dis . 5 : (53 – 67).

Esfandiar , N. ; Saleh , R.A. ; Abdoos , M. ; Rouzrokh , A. and Nazemian, Z. (2002). Positive bacterial culture of semen from infertile men with asymptomat leukocy to spermia . Int . J. Fertile women's Med. 47(6) : 265 – 335 .

Forbes, B.A.; Sahm , D.F. and Weissfeld , A.S. (2002) . Baily and Scott □s Diagnostic Microbiology . 11 ed . ST. Louis : Mosby .

Foresta C. ; Bettella , A. and Garolla, A. (2005) . Treatment male idiopathic infertility with recombinant human Follicle stimulating hormone : aprospective, controlled, randomized clinical study . J. Fertile . Steril. 84: (654 – 658) .

Glasier, A. (2002). Implan table contraceptives for women: effectiveness, discontinuation rates, return of fertility and outcome of pregnancies. J. Contra. 65 (1) : 29 – 37 .

Golshani, M.; Taheri, S.; Eslami, G.; Rahbar, A.A.S.; Fallah, F. and Goudazi, H. (2006) . Short communication genital tract infection in asyptomatic infertile men and It's effect on semen quality . Iran . J. Pud. Health . 35(3) : 81 -84 .

Guzick , D.S., Overstreet , J.W. and Factor – Litvak , P. (2001) . Sperm morphology , motility and concentration in fertile and infertile men . N. Engl. J. Med. 345 (33): 1388 – 1397 .

Hua, V.N. and Schaeffer, A.J. (2004). Acute chronic prostatitis . J. Med . Clin. North Am. 88 : (483 – 489) .

Insel , P.M. and Roth , W.T. (2004) . Core Concepts in Health : Sexuality , Pregnancy and Childbirth . 8 th ed . Mc Graw – Hill companies . Pp(88) .

Jensen , J.S. (2009) . Single – dose azithromycin treatment for *Mycoplasma genitalium* positive urethritis : best but not good enough. Clin. Infect . Dis. 84 (12) : 1655 – 1656 .

Jorgensen , N.; Anderson ; A.G. and Eustache, F. (2001) . Regional differences in semen quality , Europ. Hum. Reprod . 16 : 1012 – 1022 .

Larson , K.L. , Detonge , C.J. And Barnes , A.M. (2000) . Sperm chromatin structure assay parameter as predictors of failed pregnancy following assisted reproductive techniques . Hum. Reprod .J. 15 : 1717 – 1721 .

Li , H.X. and Liu , J.H. (2002) . Influence of male genital bacterial infection on sperm function J. Fertile . Associate . 8 (6) : 442 – 446 .

Mader , S.S. (2007) . Essentials of Biology : Reproduction and Development . 1 st ed . Mc Graw – Hill companies P.(520) .

Manavi , K. ; Mc Millan , A. and Younge , H. (2006) . Genital infection in male partners of women with chlamydial infection . Int . STD . AIDS . 17 : 34 – 40 .

Marshall , W.J. (2000) . Clinical Chemistry . 4th ed . Harcourt publisher limited .

Mclachlan , R.I. ; Bake , H.W. and Clarke , G.N. (2003) . Semen analysis : It s place in modern reproductive medical practice . J. Pathol. 35 : (125 – 139) .

Meng , M.V. ; Green , K.L. and Turek , P.J.(2005) . Surgery or assisted reproduction a decision analysis of treatment costs in male infertility . J. Urol . 174 : (1926 – 1932) .

Moi , H. ; Shahmanesh , M. ; Lassau , F. and Janier , M. (2009) . European guideline on the management of male non – gonococcal urethritis . Int . J. STD . AIDS . 20(7) : 458 – 464 .

Morello , ; Mizer , H.E. and Granato , P.A. (2006) . Laboratory Manual and Workbook in Microbiology Applications to Patient Care . 8 th ed . p.99 .

Otsuka , R. (2001) . Acute effects of passive smoking on the coronary circulation and Reproduction in ealthy young adults . J. Ameri . Med. Associ . 286 (4) : 436 – 441 .

Rodin , D.M. Larone , D. and Goldstein , M. (2003) . Relationships between semen culture , leukospermia and semen analysis in men undergoing Fertility evaluation . Ferti . Steril . 3 : 1555 – 1563 .

Ross , J.D. and Ison , C.A. (2006) . National screening and testing guidelines for STDs . Sex . Transm . Infect . 82(7) : 71 – 75 .

Sanack , M.D, ; Giupinska , M. and Kurpisz , M. (2005) . Bacterial infection and semen quality . J. Reprod . Immunal . 18(33) : 202 – 213 .

Shahmanesh , M. and Radcliff , K.W. (2007) . The necessary urethral smear in asymptomatic men attending a genitourinary medicine Clinic . sex . Transm . Infect . 83 : 79 – 81 .

Swan , S.H. ; Brazil , C. and Drobnis , E.Z. (2003) . Geographic differences in semen quality of infertile males . Environ . Health . Prespect . 42 (15) : 111 – 124 .

Vogt , P.H. (2005) . Azoopermia factor in Yg 11 : towards a molecular understanding of it's function for human male infertility and spermatogenesis . Reprod . Bio. Med . 10 : 81 – 92 .

Weidner , W. (2000) . Influencs of genital – urogenital infection on sperm function . Curr . Opin Urol . 1(1) : 39 – 49 .

Wiggins , R.C. ; Holmes , C.H. and Andresson , M. (2000) . Quantifying leukocytes in first catch urine provides new insights into our understanding of symptomatic and asymptomatic urethritis . Int . J. STD . AIDS . 17(12) : 289 – 299 .

Wilson , M.L. and Gaido , L. (2004) . Laboratory diagnosis of urinary tract infections in adult patient . J. Clin. Infect . Dis. 38(3) : 1150 – 1158 .

World Health Organization (WHO) , (2000) . Laboratory Manual for the Examination of Human Semin and Sperm Cervical Mucus Interaction . Cambridge University Press . 5 th ed .