

# بررسی تاثیر باکتری اشرشیا کُلی (*Escherichia coli*) بر بافت بیضه در

## موش صحرائی

مینا فلاح<sup>۱</sup>، آرش خاکی<sup>۲\*</sup>، بهبود جعفری<sup>۱</sup>

### چکیده

بیماریهای عفونی دستگاه تناسلی شامل میکروپها و ویروس‌هایی است که از طریق ارتباط جنسی منتقل می‌شوند. سفلیس و سوزاک عفونتهای قدیمی تناسلی هستند، اما امروزه بیماری‌های دیگری مانند ایدز و آنتی‌ژن‌هایی که از طریق رابطه جنسی منتقل می‌شوند نیز مطرح هستند. هدف از مطالعه حاضر بررسی تاثیر باکتری اشرشیا کُلی بر بافت بیضه و لوله‌های اسپرم‌ساز و پارامترهای مربوط به اسپرم بود.

تعداد ۱۶ سر موش صحرائی نر بالغ نژاد ویستار با وزن متوسط ۲۰۰ تا ۲۲۰ گرم با سن ۲/۵ تا ۳ ماه به دو گروه ۸ تایی تقسیم شده و در طی ۶۰ روز دوره مطالعه، حیوانات در معرض ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی قرار گرفتند. سوش اشرشیا کُلی انتروتوکسیژنیک (سروتایپ-۰۱۱۴) از آزمایشگاه مرجع بوعلی تهران تهیه و جهت عفونی نمودن موش‌ها استفاده شد. پس از ایجاد عفونت از بافت اسپرم نمونه آسیب شناسی تهیه و با رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین - اتوزین بررسی شد. همچنین میزان تحرک، قابلیت زیست و تعداد اسپرم‌ها نیز ارزیابی گردید.

نتایج مطالعه بافتی نشان داد در گروه شاهد تمامی لوله‌های اسپرم‌ساز به همدیگر چسبیده و تمامی رده‌های سلولهای زاینده جنسی قابل مشاهده بود. درحالیکه در گروه دریافت کننده اشرشیا کُلی، لوله‌های اسپرم‌ساز از هم گسیخته شده و رده‌های سلولی جنسی از بین رفته‌اند. نتایج بررسی پارامترهای اسپرم نشان داد، که میزان تعداد اسپرم، قابلیت زیست اسپرم و تحرک اسپرم بصورت معنی‌داری در گروه آلوده به باکتری ای‌کلی نسبت به گروه شاهد کاهش می‌یابد.

نتایج مطالعه نشان داد که باکتری اشرشیا کُلی بصورت مشخصی بر میزان باروری و بافت بیضه تاثیر نامطلوب داشته و می‌تواند باعث کاهش باروری گردد.

**واژگان کلیدی:** باکتری اشرشیا کُلی، ناباروری، بافت بیضه، پارامترهای اسپرم

تاریخ دریافت: ۹۵/۱۰/۳ تاریخ پذیرش: ۹۶/۱/۱۴

### مقدمه

باروری یکی از اجزا کلیدی در زندگی مشترک جنسی بوده و ناباروری به عنوان یکی از مشکلات سلامتی عمومی توسط

سازمان بهداشت جهانی شناخته شده است (۲۵). ناباروری توسط سازمان بهداشت جهانی به عدم بارداری پس از ۱۲ ماه یا بیشتر، رابطه جنسی محافظت نشده اتلاق می‌شود (۴۸). ناباروری معمولاً ۱۵٪ زوجین را تحت تاثیر قرار می‌دهد (۲۰). در حدود ۵۰-۳۰٪ علل ناباروری مربوط به مردان است و ۳۰ تا ۴۰ درصد از علل ناباروری مردان به دلیل اختلالات اسپرم می‌باشد (۱۰). شایع‌ترین علت ناباروری در مردان عدم توانایی در تولید تعداد کافی اسپرم‌های سالم و فعال و همچنین دارای قدرت تحرک کافی است (۴). توانایی باروری در مردان تا حدود زیادی به تعداد، کیفیت، تحرک و شکل اسپرم بستگی دارد و اختلال هرکدام از این فاکتورها می‌تواند باعث ناباروری مردان شود (۳۳).

نتایج پژوهش‌ها نشان می‌دهد که ۴۸/۵ میلیون زوج نابارور در دنیا وجود دارد (۲۶). ناباروری، یکی از مشکلات مهم در زندگی حدود ۲۵٪ از زوج‌ها می‌باشد، که تقریباً ۶۰٪ از موارد ناباروری مربوط به مرد و باقی موارد مربوط به زن یا هر دو است (۲۳۹). هزینه‌های ناشی از باروری پایین یا ناباروری در ۲۰ سال گذشته کاهش قابل ملاحظه‌ای نداشته است. براساس نتایج پژوهش‌ها در ۵۰٪ موارد عوامل مردانه در ناباروری نقش دارند (۶). حدود یک چهارم زوجین ایرانی ناباروری اولیه را در طول زندگی مشترک شان تجربه می‌کنند که این مشکل در ۳/۴٪ آنها باقی می‌ماند (۴۲). میزان متوسط ناباروری اولیه در ایران ۱۰/۶٪ و ناباروری ثانویه ۲/۷٪ است و ۳۴٪ از این ناباروری‌ها بدلیل عوامل

۱- گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اهر، اهر، ایران

۲- دانشیار گروه پاتوبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تبریز، تبریز، ایران. arashkhaki@yahoo.com

موشهای مورد آزمایش به ۲ گروه ۸ تایی تقسیم شده و در طی ۶۰ روز دوره مطالعه حیوانات در معرض ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی قرار گرفتند. آب آشامیدنی مورد استفاده آب لوله کشی شهری و تغذیه آنها از غذای مخصوص موش بود.

#### آماده سازی باکتری جهت تلقیح:

سوش اشرشیا کلی انتروتوکسیژنیک (سروتایپ ۰۱۱۴) از آزمایشگاه مرجع بوعلی تهران تهیه و بعد از انتقال به آزمایشگاه بر روی محیط کشت مک کانکی آگار و ائوزین متیلن بلو یک پاساژ داده شد. پس از گرمخانه گذاری در ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت کلونی های حاصل از کشت از نظر میکروسکوپی و ماکروسکوپی و بیوشیمیایی مورد بررسی قرار گرفتند. سپس تعداد ۵ کلنی لاکتوز مثبت و ۲ کلنی لاکتوز منفی از روی محیط مک کانکی انتخاب کرده و هرکدام جداگانه بر روی TSI کشت شدند. سپس محیط TSI را به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه قرار داده شدند و پس از ۲۴ ساعت نتایج کشت را بررسی کرده و از روی محیط TSI بر روی محیط های افتراقی جهت تشخیص افتراقی و محیط نوترینت آگار جهت سرولوژی کشت داده شدند و نتایج را بعد از مدت زمان ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه بررسی و سپس کلنی های آن از نظر میکروسکوپی و بیوشیمیایی بررسی شد.

بعد از کشت، اشرشیا کلی بر روی محیط TSB در ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۱۲-۱۸ ساعت گرما گذاری گردید تا تعداد باکتریها افزایش یابد. سپس محیط TBS در مدت ۱۵-۲۰ دقیقه با دور ۲۰۰۰ سانتریفیوژ و رسوبات سه بار با PBS شست شو داده شدند. در مرحله آخر رسوبات در ۰/۵ میلی لیتر PBS حل شدند و با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتری در طول موج ۶۳۰ نانومتر جذب نور اندازه گیری شد. با توجه به جذب  $OD=0/5$  در طول موج ۶۳۰

مردانه است (۴۷). در ۱۵ الی ۲۵ درصد موارد نیز علت دقیق ناباروری مشخص نمی شود.

جداسازی میکروارگانیسم ها از مایع منی مردان به ویژه از منی مردان نابارور بطور گسترده ای گزارش شده است (۳۲ و ۲۹). عقیده بر این است که عفونت های دستگاه ادراری مردان با اختلال در باروری مردان مرتبط می باشد (۳۴ و ۸). برخی مطالعات پیشنهاد نموده اند که ارتباط یک عفونت با ناباروری ممکن است از طریق تاثیر منفی آن بر روی مایع منی باشد (۳۶ و ۳۴). همچنین براساس نتایج پژوهش ها عفونت های باکتریایی کیفیت اسپرم انسان را در مردان نابارور تغییر می دهد (۳۰ و ۱۴). در بین باکتری های عفونت زا در دستگاه ادراری باکتری اشرشیا کلی شایع ترین میکروارگانیسمی می باشد که باعث عفونت می گردد (۱)، بطوریکه این باکتری عامل بیش از ۶۰٪ از موارد عفونت دستگاه ادراری می باشد (۴۴). برخی مطالعات، باکتری اشرشیا کلی را عامل بروز ناباروری در مردان گزارش نموده اند (۲۲ و ۱۷)، در حالی که در مطالعات دیگری عدم ارتباط این باکتری با ناباروری مردان گزارش شده است (۹). نتایج مطالعه دیگری نیز نشان داده است که با افزایش سن افراد ارتباط باکتری اشرشیا کلی با کیفیت اسپرم اهمیت بیشتری پیدا می کند (۴۰).

هدف از مطالعه حاضر بررسی تاثیر باکتری اشرشیا کلی بر بافت بیضه و لوله های اسپرم ساز و شاخص های مربوط به اسپرم بود.

#### مواد و روش کار

مطالعه حاضر یک مطالعه آزمایشگاهی می باشد، که براساس اصول اخلاقی نحوه کار با حیوانات آزمایشگاهی انجام گرفته است. در این مطالعه تعداد ۱۶ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با وزن متوسط ۲۰۰ تا ۲۲۰ گرم با سن ۲/۵ تا ۳ ماه مورد استفاده قرار گرفتند. جهت انجام مطالعه

ASA 400 Kodak ultra و میکروسکوپ نوری مدل Olympus/3H-Z) ساخت کشور ژاپن استفاده شد (۲۷). پس از پایان مطالعه براساس قانون حمایت از حیوانات و در طول مدت ۲ ساعت (۹-۱۱ صبح)، موشها توسط گاز CO<sub>2</sub> آسان کشی شدند.

#### بررسی پارامترهای اسپرم

برای ارزیابی مورفولوژی اسپرم، اپیدیدیم در شرایط استریل از بدن خارج و داخل محیط کشت RPMI-1640 بدون سرم شستشو داده شده، سپس نمونه را به یک پتری دیش کوچک ۳۵ میلی متر آزمایشگاه حاوی محیط کشت منتقل و توسط قیچی به قطعات کوچک خرد نموده، آنگاه آنها را داخل پلیت ۲۴ حفره ای که حاوی ۰/۵ میلی لیتر از محیط کشت حاوی سرم آلبومین گاوی ۴ میلی گرم بر میلی لیتر قرار داده و به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری گردید. بافت‌های قطعه قطعه شده را از محیط کشت خارج نموده و سوسپانسیون اسپرم بدست آمده در داخل انکوباتور قرار داده شد. از سوسپانسیون حاوی اسپرم رقت ۱:۱۰۰ تهیه و یک قطره از نمونه رقیق شده را بر روی لام میکروسکوپی قرار داده و اسپرم‌ها را از نظر تعداد، درصد تحرک و درصد قابلیت زیست مورد بررسی قرار داده شد. شایان ذکر است نوع رنگ آمیزی بافت بیضه هماتوکسیلین و ائوزین بود.

#### نتایج

همانطور که در نگاره ۱، بافت بیضه گروه شاهد ملاحظه می‌گردد، تمامی لوله های اسپرم ساز به همدیگر چسبیده‌اند و تمامی رده‌های سلول‌های زایگر جنسی مشاهده می‌گردد. در حالی که در گروه دریافت کننده باکتری، لوله های اسپرم ساز از هم گسیخته شده و رده‌های سلولی جنسی از بین رفته‌اند (نگاره ۲).

نانومتر لوله حاوی  $1 \times 10^8$  CFU/ml توده باکتری می‌باشد، که این محلول در آمپول ۲ میلی لیتری ریخته شد و سپس به موش خوراندن شد (۱۶ و ۴۹).

#### نمونه برداری

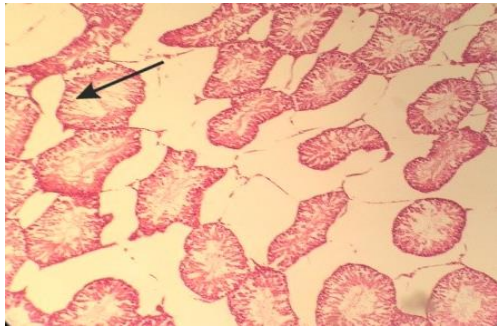
جهت بیهوشی برای بررسی نمونه بافتی بیضه، از پنتوباریتال (۴۰ گرم/کیلوگرم) به روش تزریق داخل صفاقی استفاده شد و سپس ناحیه صفاقی با شکاف عرضی شکمی باز شد و بیضه‌ها در هر دو گروه کنترل و گروه آزمون از بدن خارج و توزین شدند.

#### بررسی باکتری در بیضه‌ها:

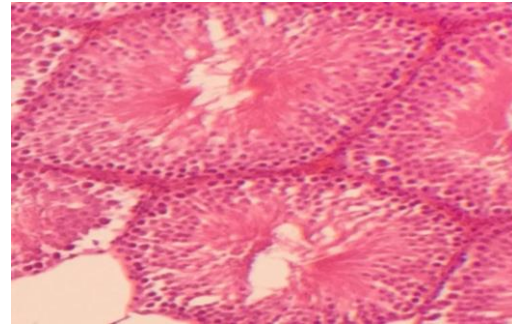
در روز ۶۰ مطالعه، بعد از خارج کردن بیضه‌ها را جهت مطالعات میکروسکوپ نوری در فرمالین بافر ۱۰٪ به ابعاد ۱ سانتی متر مکعب تثبیت نمودیم. سپس نیمه بیضه باقیمانده راجهت مطالعات میکروبیولوژی و برای بررسی و جداسازی E.Coli از محیط بیضه به محیط مک کانکی آگار برده و سپس از این محیط روی دو محیط (VRBA Violet) و (Red Bile Agar) E.M.B و (Eosin methylene blue) کشت داده شد و بعد از رشد اشریشیا کلی روی محیط E.M.B از پرگنه های مشخص آن روی محیط های T.S.I کشت داده شده و نتایج بررسی گردید. برای بررسی و جداسازی و تشخیص اشریشیاکلی از محیط بیضه به محیط مک کانکی آگار برده شد و پس از آن به دو محیط VRBA و EMB کشت داد شد. پس از رشد اشریشیا کلی روی محیط EMB از پرگنه های مشخص آن روی محیط TSI انتقال داده شد و نتایج ارزیابی گردید.

#### بررسی آسیب شناسی بافتی

نمونه های بافت بیضه در محلول فرمالین بافر ۱۰٪ تثبیت گردید و پس از تهیه مقاطع میکروسکوپی با ضخامت ۵ میکرون با هماتوکسیلین-ائوزین به روش رایج رنگ آمیزی گردید و سپس جهت تهیه تصاویر میکروسکوپی از فیلم



نگاره ۲- بافت بیضه گروه *E. coli*، لوله های اسپرم ساز از هم گسیخته شده (فلش) و رده های سلولی جنسی از بین رفته اند (رنگ آمیزی هماتوکسیلین ائوزین - بزرگنمایی x160)



نگاره ۱- بافت بیضه، در گروه شاهد که تمامی رده های سلول های زایگر جنسی مشاهده می گردد (رنگ آمیزی هماتوکسیلین ائوزین - بزرگنمایی x320)

آلوده به باکتری اشرشیا کلی نسبت به گروه شاهد کاهش می یابد.

نتایج مطالعه نشان داد (جدول ۱)، که میزان تعداد اسپرم، قابلیت زیست اسپرم و تحرک اسپرم بصورت معنی داری در گروه

جدول ۱- میزان میانگین  $\pm$  خطای استاندارد تحرک، قابلیت زیست و تعداد اسپرم در دو گروه مورد مطالعه

تعداد اسپرم	قابلیت زیست اسپرم	تحرک اسپرم	
62±0/05	70±0/05	40±0/05	شاهد
42±0/03	60±0/070	30±0/06	اشرشیا کلی
0/006	0/019	0/011	معنی داری

منجر به کاهش توانایی باروری و در نتیجه، افزایش احتمال ناباروری می شوند (۶) و یکی از مهمترین علت های ناباروری مردان، حضور میکروب های اشرشیا کلی و استافیلوکوکوس اورئوس، کلامیدیا تراکوماتیس و نایسریا گونوره آ در مایع منی و مجاری تناسلی است (۳۸).

بعضی از مکانیسم های پاتوفیزیولوژیک در مردان نابارور با عفونت مایع منی (باکتریواسپرمی) ارتباط دارد. عفونت به طور مستقیم موجب کاهش غیرطبیعی تعداد اسپرماتوزوئید مایع منی، کاهش تحرک و تغییرات مورفولوژی در اسپرم (توسط میکروسکوپ نوری طبق روش کار تعریف شده سازمان بهداشت جهانی) می شود و در نتیجه قدرت باروری را کاهش می دهد. همچنین به طور غیر مستقیم می تواند موجب عفونت،

## بحث

ناباروری در مردان یک بیماری با عوامل چندگانه می باشد که همراه با عوامل ژنتیکی مختلف و فاکتورهای مختلف دخیل نظیر عفونت های ادراری تناسلی، بیماری های ایمنولوژیک و آندوکراین، آسیب ناشی از گونه های فعال اکسیژن (ROS)، بهم ریختگی ناشی از اختلال آندوکرینی می باشد (۶). براساس مطالعات انجام شده، عفونت های باکتریایی و پاسخ های متعاقب سیستم ایمنی یکی از عوامل مهم ایجاد ناباروری در مردان است. این عفونت ها بر قسمت های مختلف سیستم تولید مثل مردان مثل بیضه ها، اپیدیدیم، و غدد تناسلی ضمیمه اثر می گذارند. بنابراین، این عفونت ها در مراحل مختلف تکامل، بلوغ و انتقال بر کیفیت اسپرم ها اثرات سوء برجای گذاشته و از این طریق

جنس های کلبسیلا، سالمونلا و پروتئوس نیز صادق باشد. پسودوموناس آئروژینوزا می تواند سبب اپیدیدیمیت و پروستاتیت گردد و از اینطریق در باروری مردان تداخل ایجاد نماید (۲۱). اما عفونت های اشریشیا کلی در مردان با ایجاد عواملی مانند بی تحرکی اسپرم، التهاب اپیدیدیم و پروستات، باعث ناباروری می شود (۱۱).

آنتی بیوتیک ها جهت درمان بیماریهای عفونی کاربرد مهمی دارند. بیماریهای عفونی دستگاه ادراری یکی از مهمترین عوامل تهدید کننده زندگی افراد بالغ به شمار می رود، افراد مذکر جامعه در طول زندگی خود به یکی از بیماریهای دستگاه تناسلی، ادراری مبتلا می شوند (۵ و ۴۱). مهمترین عوامل پاتوژن در این دستگاه اشریشیا کلی، به میزان ۷۰-۹۵٪ و استافیلوکوکوس ساپروفیتوکوس به میزان ۵٪ می باشند (۳۵ و ۱۵). در مطالعه ای مشابه که انجام شد مشخص گردید مایع منی ۱۶٪ از مردان بارور و ۲۵٪ افراد نابارور دارای عفونت باکتریایی است همچنین در گزارشی اعلام شده چنانچه تعداد اشریشیا کلی از  $10^8$  عدد در منی تجاوز کند باعث تخریب پارامترهای اسپرم می شود. البته این آزمایش ها در *in vitro* انجام گرفته بود، بنابراین ارتباط دادن آن به *in vivo* نمی تواند توجیه پذیر باشد (۱۹).

Merino و همکاران نیز در سال ۱۹۹۵ مایع منی مردانی را که به دلیل ناباروری به درمانگاه آندرولوژی مراجعه کرده بودند مورد آزمایش میکروبی قرار دادند، نتایج نشان داد در بین باکتری های هوازی، اشریشیا کلی ۹٪ بوده است این محققین در مقاله خود تأکید داشتند وجود باکتری در منی، اثر نامطلوب مستقیم بر روی کیفیت اسپرم داشته و احتمال سوق بیمار به آزواسپرمی را پیش بینی می کند (۲۹).

نتایج مطالعات نشان داده است که باکتری اشریشیا کلی، اسپرماتوزا را بطور مستقیم از طریق فعل و انفعالات سلولی و پدیده چسبندگی تحت تاثیر قرار داده و موجب تغییر میزان حرکت و اختلال در یکپارچگی سلول و ساختار مولکولی

آسیب به بیضه، التهاب و در پی آن تحریک سیستم ایمنی بر علیه آنتی ژن های خودی همراه با لکوسیتواسپرمی شود که همه این عوامل می توانند مرد را دچار معضل ناباروری کنند (۲۸). نتایج مطالعات نشان داده است که طیف وسیعی از باکتری ها با درجات مختلف، در ایجاد ناباروری مردان نقش دارند (۳۸ و ۱۸).

در میان مردان که از لحاظ جنسی فعال تر و جوان تر از ۳۵ سال با سابقه پزشکی تخلیه مجرای ادرار، شایع ترین پاتوژن مربوط به ورم بیضه است که باکتری های کلامیدیا تراکوماتیس و نایسریا گونوره نقش دارند (۴۴). عفونت با باکتری اشریشیا کلی و دیگر انتروباکتریاسه ویژه مردان مسن تر است (۲۴) و عفونت های تناسلی ادراری نیز با تغییرات بیولوژیک و شیمیایی در مایع سمینال است که می تواند عملکرد و پتانسیل لقاح اسپرم را مختل کند که مرتبط با بیضه ها است (۴۵). التهاب بیضه به عنوان یک عارضه تورم اپیدیدیم در عفونت های باکتریایی شایع است (۳۱).

مجاری بیرون ریزنده یک ورودی برای ایجاد عفونت های میکروبی می باشند که می تواند تحت عنوان اورتریت، پروستاتیت آشکار، اپیدیدیمیت یا ورم بیضه بروز کند. بنابراین تعجب آور نیست که در ۱۳-۱۵ درصد از تمام موارد عفونت های ناباروری با علل مردانه و التهاب دستگاه تناسلی مردان به عنوان باعث ایجاد یا عامل اختلالات باروری اولیه در مردان در نظر گرفته می شود

اشریشیا کلی و انتروکوکوس، از باکتری های شایع مجرای روده ای به شمار می روند. برخی محققین، هر دو ارگانیزم را در ۱۳٪ از بیماران خود شناسایی نموده اند (۱۱).

اشریشیا کلی شایع ترین عامل ایجاد کننده اپیدیدیمیت- اورکیت منتقل شونده از طریق غیرجنسی است و در ۶۵٪ تا ۸۰٪ موارد حاد یا مزمن پروستاتیت نقش دارند. بنابراین اشریشیا کلی ممکن است در ایجاد ناباروری دخیل باشد و همینطور این موضوع ممکن است برای دیگر اعضای خانواده انتروباکتریاسه متعلق به

حاضر نیز نشان داد که باکتری اشرشیا کلی باعث کاهش میزان تحرک، قابلیت زیست و تعداد اسپرم در گروه عفونی شد، نتایج مطالعه حاضر با نتایج مطالعات پیشین همسو می‌باشد.

نتایج مطالعه پژوهشگران نشان داد باکتری اشرشیا کلی منجر به تورم اپیدیدیم در موش صحرایی می‌گردد و در ۲۰٪ موارد عفونت از طریق سیستم لنفاوی به بیضه گسترش می‌یابد. سلولهای زایگر نیز در ۵۰٪ موارد در روز دوم مطالعه تخریب گردیدند و پس از پند ماه نیز بازایی نگردید. به نظر می‌رسد تاثیر توکسین‌های باکتریایی و با توقف ناگهانی جریان مایعات به لوله‌های اسپرم ساز باعث ایجاد آسیب‌های مذکور در بیضه می‌گردد (۲۳). نتایج مطالعه حاضر نیز نشان داد که باکتری اشرشیا کلی موجب از هم گسیختگی شدید و آتروفی دژنراسیون در لوله‌های اسپرم ساز می‌شود، که مطابق با نتایج مطالعات پیشین می‌باشد.

### فهرست منابع

1. Abera, B., Biadegelgen, F., Bezabih, B. (2010): Prevalence of Salmonella Typhi and Intestinal Parasites among Food Handlers in Bahir Dar Town. Northwest Ethiopia. *Ethiop. J. Heal. Develop.* 24(1):84-89.
2. Ahmad, M.K., Mahdi, A.A., Shukla, K.K., Islam, N., Jaiswar, S.P., Ahmad, S. (2008): Effect of Mucuna Pruriens on Semen Profile and Biochemical Parameters in Seminal Plasma of Infertile Men. *Fertil Steril.* 90(3): 627-635.
3. Aurox, M., Jacques, L., Mathieu, D., Auer, J. (1991): Is the Sperm Bacterial Ratio a Determining Factor in Impairment of Sperm Motility: An in- Vitro Study in Man with Escherichia Coli. *Inte. j. andro.* 14(4): 264-270.
4. Bastampoor, F., Sadeghi, H., Hosseini, S. (2014): The Petroselinum Crispum L. Hydroalcoholic Extract Effects on Pituitary-Gonad Axis in Adult Rats. *Armaghane danesh.* 19(4): 305-313.

اسپرماتوزوا می‌شود (۳ و ۴۵). نتایج پژوهشگران نشان داد که باکتری اشرشیا کلی تاثیرات بسیار معنی داری بر حرکت اسپرماتوزوا انسان داشت (۱۳).

نتایج مطالعه ای نشان داد که در ایجاد عفونت مایع منی مردان بیشترین شیوع مربوط به گونه‌های استافیلوکوکوس و اشرشیاکلی بوده است، این باکتری‌ها از مهمترین عوامل ایجاد کننده ناباروری در مردان به شمار می‌آیند که این نتایج با یافته‌های مطالعه Holmes و همکاران همخوانی داشت. آنها گزارش کردند اشرشیاکلی یکی از مهمترین عفونتهای علامت‌دار و یا بدون علامت دستگاه ادراری - تناسلی بوده و می‌تواند پارامترهای اسپرم مانند تحرک و متابولیسم را تغییر دهد، همچنین نشان دادند وجود اشرشیا کلی موجب مرگ ۱۵٪ اسپرم‌ها در شرایط خارج از بدن می‌شود (۱۲).

آسیب فراساختاری ناشی از باکتری اشرشیا کلی بر روی اسپرماتوزوا با روش‌های مختلف میکروسکوپ الکترونیک مشخص شده است (۷ و ۳۷). اتصال باکتری به ساختار سطحی اسپرماتوزوا توسط مولکول‌های چسبنده نوع ۱ موجب تغییر ساختار و آسیب به لایه پلاسمایی اسپرم انسان می‌شود که این آسیب به قسمت آکروزم اسپرم نیز وارد خواهد شد. آسیب در قسمت آکروزم، قسمت میانی و دم اسپرم موجب کاهش شدید تحرک اسپرم و عدم توانایی در باروری خواهد شد (۳۷). عفونت‌های باکتریایی باعث به هم چسبیدن اسپرم (آگلوتیناسیون) می‌شوند، که این امر می‌تواند باعث بی تحرکی اسپرم‌ها گردد. میزان بی تحرکی به تجمع باکتریها در مایع منی بستگی دارد. یکی از باکتریهای که ایجاد آگلوتیناسیون می‌نمایند، باکتری اشرشیاکلی می‌باشد (۳ و ۴۶). همچنین ایجاد التهاب حاد اپیدیدیم در اثر عفونت باکتریایی، در بیشتر موارد باعث مختل شدن فرآیند اسپرماتوزن می‌شود که در اکثر موارد با تجویز صحیح آنتی بیوتیک بهبود یافته و پارامترهای اسپرم به حد نرمال خود می‌رسند (۴۳ و ۱۸). نتایج حاصل از مطالعه

5. Bennett, J.E., Dolin, R., Blaser, M.J. (2014): Principles and Practice of Infectious Diseases. Else. Heal. Scie. 1(10): 5-30.
6. Coutton, C., Fissore, R.A., Palermo, G.D., Stouffs, K., Toure, A. (2016): Male Infertility: Genetics, Mechanism, and Therapies. Bio. Res. Inter. 20(1): 55-67.
7. Diemer, T., Weidner, W., Michelmann, H.W., Schiefer, H.G., Rován, E., Mayer, F. (1996): Influence of Escherichia Coli on Motility Parameters of Human Spermatozoa in Vitro. Int. j. andro. 19(5): 271-277.
8. Dohle, G.R., Colpi, G., Hargreave, T., Papp, G., Jungwirth, A., Weidner, W., Infertility, E.W.G.O.M. (2005): Eau Guidelines on Male Infertility. Euro. urol. 48(5): 703-711.
9. Fowler Jr, J., Mariano, M. (1983): Bacterial Infection and Male Infertility: Absence of Immunoglobulin a with Specificity for Common Escherichia Coli 0-Serotypes in Seminal Fluid of Infertile Men. J. urolo. 130(1): 171-174.
10. Godmann, M., Lambrot, R., Kimmins, S. (2009): The Dynamic Epigenetic Program in Male Germ Cells: Its Role in Spermatogenesis, Testis Cancer, and Its Response to the Environment. Mic. Res.Tech. 72(8): 603-619.
11. Hillier, S.L., Rabe, L.K., Muller, C.H., Zarutskie, P., Kuzan, F.B., Stenchever, M.A. (1990): Relationship of Bacteriologic Characteristics to Semen Indices in Men Attending an Infertility Clinic. Obstet Gynecol. 75(5): 800-804.
12. Holmes, K.K., Berger, R.E., Alexander, E.R. (1979): Acute Epididymitis: Etiology and Therapy. Arch Androl. 3(4): 309-316.
13. Huwe, P., Diemer, T., Ludwig, M., Liu, J., Schiefer, H.G., Weidner, W. (1998): Influence of Different Uropathogenic Microorganisms on Human Sperm Motility Parameters in an in Vitro Experiment. Andrologia. 30(1): 55-59.
14. Ibadin, O., Ibeh, I. (2008): Bacteriospermia and Sperm Quality in Infertile Male Patient at University of Benin Teaching Hospital, Benin City, Nigeria. J. Micr. 4(2): 65-67.
15. Jun, Y.T., Kim, H.J., Song, M.J., Lim, J.H., Lee, D.G., Han, K.J., Choi, S.M., Yoo, J.H., Shin, W.S., Choi, J.H. (2003): In Vitro Effects of Ciprofloxacin and Roxithromycin on Apoptosis of Jurkat T Lymphocytes. Antimicrob Agents Chemother. 47(3): 1161-1164.
16. Kabir, A., Aiba, Y., Takagi, A., Kamiya, S., Miwa, T., Koga, Y. (1997): Prevention of Helicobacter Pylori Infection by Lactobacilli in a Gnotobiotic Murine Model. Gut. 41(1): 49-55.
17. Kaur, K., Prabha, V. (2014): Spermagglutinating Escherichia Coli and Its Role in Infertility: In Vivo Study. Microb Pathog. 69(10): 7033-38.
18. Keck, C., Gerber-Schafer, C., Clad, A., Wilhelm, C., Breckwoltd, M. (1998): Seminal Tract Infections: Impact on Male Fertility and Treatment Options. Hum Reprod Update. 4(6): 891-903.
19. Kessler, H.H., Pierer, K., Stuenzner, D., Auer-Grumbach, P., Haller, E.M., Marth, E. (1994): Rapid Detection of Chlamydia Trachomatis in Conjunctival, Pharyngeal, and Urethral Specimens with a New Polymerase Chain Reaction Assay. Sex. Trans. Dise. 21(4): 191-195.
20. Kim, S.J., Kim, M.R., Hwang, S.Y., Bae, W.J., Kim, S., Hong, S.H., Lee, J.Y., Hwang, T.K., Wang, Z., Kim, S.W. (2013): Preliminary Report on the Safety of a New Herbal Formula and Its Effect on Sperm Quality. World J Mens Health. 31(3): 254-261.
21. Lauper, U., Schlatter, C. (2004): Adnexitis Und «Pelvic Inflammatory Disease». Gynäkologisch-geburtshilfliche Rundschau. 45(1): 14-18.
22. Lu, Y., Bhushan, S., Tchatalbachev, S., Marconi, M., Bergmann, M., Weidner, W., Chakraborty, T., Meinhardt, A. (2013): Necrosis Is the Dominant Cell Death Pathway in Uropathogenic Escherichia Coli Elicited Epididymo-Orchitis and Is Responsible for Damage of Rat Testis. PloS one. 8(1): 52919-52921.
23. Lucchetta, R., Clavert, A., Meyer, J.M., Bollack, C. (1983): Acute Experimental E. Coli Epididymitis in the Rat and Its Consequences on Spermatogenesis. Urol Res. 11(3): 117-120.
24. Ludwig, M. (2008): Diagnosis and Therapy of Acute Prostatitis, Epididymitis and Orchitis. Andrologia. 40(2): 76-80.
25. Macaluso, M., Wright-Schnapp, T.J., Chandra, A., Johnson, R., Satterwhite, C.L., Pulver, A., Berman, S.M., Wang, R.Y., Farr,

- S.L., Pollack, L.A. (2010): A Public Health Focus on Infertility Prevention, Detection, and Management. *Fertil. Steril.* 93(1): 11-10.
26. Mascarenhas, M.N., Flaxman, S.R., Boerma, T., Vanderpoel, S., Stevens, G.A. (2012): National, Regional, and Global Trends in Infertility Prevalence since 1990: A Systematic Analysis of 277 Health Surveys. *PLoS Med.* 9(12): 1001356-1001362.
27. Maser, R.L., Magenheimer, B.S., Calvet, J.P. (1994): Mouse Plasma Glutathione Peroxidase. Cdna Sequence Analysis and Renal Proximal Tubular Expression and Secretion. *J. biolo. chemis.* 269(43): 27066-27073.
28. MCGowan, M.P., Burger, H.G., Baker, H.W., De Kretser, D.M., Kovacs, G. (1981): The Incidence of Non-Specific Infection in the Semen in Fertile and Sub-Fertile Males. *Inte. j. andro.* 4(6): 657-662.
29. Merino, G., Carranza-Lira, S., Murrieta, S., Rodriguez, L., Cuevas, E., Moran, C. (1995): Bacterial Infection and Semen Characteristics in Infertile Men. *Arch Androl.* 35(1): 43-47.
30. Moretti, E., Capitani, S., Figura, N., Pammolli, A., Federico, M.G., Giannerini, V., Collodel, G. (2009): The Presence of Bacteria Species in Semen and Sperm Quality. *J Assist Reprod Genet.* 26(1): 47-56.
31. Ochsendorf, F.R. (2008): Sexually Transmitted Infections: Impact on Male Fertility. *Andrologia.* 40(2): 72-75.
32. Orji, I., Ezeifeke, G., Amadi, E., Okafor, F. (2007): Role of Enriched Media in Bacterial Isolation from Semen and Effect of Microbial Infection on Semen Quality: A Study on 100 Infertile Men. *Pak. J. Med. Sci.* 23(6): 885-888.
33. Oyeyemi, M., Olukole, S., Esan, O. (2008): Sperm Morphological Studies of the West African Dwarf Buck Treated with Pumpkin Plant (*Cucurbita Pepo*)/Estudio Morfológico Del Esperma De La Cabra Enana Del Oeste Africano Tratado Con Planta De Calabazas (*Cucurbita Pepo*). *Inte. j. Morph* 26(1): 121-127.
34. Pellati, D., Mylonakis, I., Bertoloni, G., Fiore, C., Andrisani, A., Ambrosini, G., Armanini, D. (2008): Genital Tract Infections and Infertility. *Euro. j. obst. gynec. reprod. biol.* 140(1): 3-11.
35. Reece, R.J., Maxwell, A. (1991): Probing the Limits of the DNA Breakage-Reunion Domain of the *Escherichia Coli* DNA Gyrase a Protein. *J biolo. chemis.* 266(6): 3540-3546.
36. Rodin, D.M., Larone, D., Goldstein, M. (2003): Relationship between Semen Cultures, Leukospermia, and Semen Analysis in Men Undergoing Fertility Evaluation. *Fert. steril.* 1(60):791555-791558.
37. Schiefer, H., Weidner, W. (2000): *Escherichia Coli*-Induced Alterations of Human Spermatozoa. An Electron Microscopy Analysis. *Inte. j. Andro* 10(1):23178-23186.
38. Skakkebaek, N.E., Giwercman, A., De Kretser, D. (1994): Pathogenesis and Management of Male Infertility. *Lancet.* 343(8911): 1473-1479.
39. Szkodziak, P., Wozniak, S., Czuczwar, P., Wozniakowska, E., Milart, P., Mroczkowski, A., Paszkowski, T. (2016): Infertility in the Light of New Scientific Reports - Focus on Male Factor. *Ann. Agri. Enviro. Med.* 23(2): 227-230.
40. Torki, A., Khalili, M.B., Ghasemzadeh, J. (2016): Association of *E. Coli* in the Semen with Male Infertility in Infertility Research Center of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences in Yazd. *Research on Medicine. Rese. Med.* 40(1): 12-16.
41. Utis, U., Any, U. (1997): Urinary Tract Infections in Adults. *Euro. Ass. Urolo.* 10(45):753-756
42. Vahidi, S., Ardalan, A., Mohammad, K. (2009): Prevalence of Primary Infertility in the Islamic Republic of Iran in 2004-2005. *Asia. Pac. J. Public. Health.* 21(3): 287-293.
43. Weidner, W., Garbe, C., Weissbach, L., Harbrecht, J., Kleinschmidt, K., Schiefer, H., Friedrich, H. (1990): Initial Therapy of Acute Unilateral Epididymitis Using Ofloxacin. Ii. Andrological Findings. *Der Urologe.* 29(5): 277-280.
44. Wiles, T.J., Kulesus, R.R., Mulvey, M.A. (2008): Origins and Virulence Mechanisms of Uropathogenic *Escherichia Coli*. *Exp. Mol. Pathol.* 85(1): 11-19.
45. Wolff, H., Panhans, A., Stolz, W., Meurer, M. (1993): Adherence of *Escherichia Coli* to Sperm: A Mannose Mediated Phenomenon Leading to Agglutination of Sperm and *E. Coli*. *Fertil Steril.* 60(1): 154-158.



46. Wølner-Hanssen, P., Mårdh, P.-A. (1984): In Vitro Tests of the Adherence of Chlamydia Trachomatis to Human Spermatozoa. *Fertil. Steril.* 42(1): 102-107.
47. Zare, Z., Golmakani, N., Shareh, H., Khadem, N. (2014): Factors Related to Marital Satisfaction in Primiparous Women During Postpartum Period. *J.M.R.H* 2(2): 120-127.
48. Zegers-Hochschild, F., Adamson, G.D., De Mouzon, J., Ishihara, O., Mansour, R., Nygren, K., Sullivan, E., Van Der Poel, S. (2009): The International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology (Icmart) and the World Health Organization (Who) Revised Glossary on Art Terminology. *Hum Reprod.* 24(1): 343-345.
49. Zhao, T., Doyle, M.P., Harmon, B.G., Brown, C.A., Mueller, P.O., Parks, A.H. (1998): Reduction of Carriage of Enterohemorrhagic Escherichia Coli O157:H7 in Cattle by Inoculation with Probiotic Bacteria. *J Clin Microbiol.* 36(6): 641-647.