دور الوسط الزرعي FertiCult Flushing Medium في تنشيط معالم النطف في الزجاج لمرضى العقم المصابين بوهن النطف المعتدل

سماح عامر حمود العبيدي
كلية العلوم / جامعة الكوفة

د.صاحب يحيى المرشدي
كلية الطب / جامعة الكوفة

الخلاصة

شمل البحث فحص وتنشيط 34 عينة من المني للرجال المصابين بوهن النطف،وقد هدف البحث الى تحسين القدرة الاخصابية وتنشيط معالم النطف في الزجاج بأستخدام الوسط الزرعي FertiCult flushing medium وثلاث تقنيات مختلفة والمتمثلة بالسباحة للأعلى والغسل والنبذ والخلط بعد الغسل والنبذ وبمدد حضن 30-45-60 دقيقة. بينت النتائج ارتفاعاً معنوياً ($p<0.05$) في النسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف ومعامل حركة النطف وانخفاضاً معنوياً في تركيز النطف والنسبة المئوية للنطف غير السوية وتركيز خلايا الدم البيض بعد استخدام الوسط الزرعي والتقنيات الثلاث وتركز في تقنية السباحة للأعلى وعند مدة حضن 601 دقيقة .نستنتج من الدراسة الحالية ان للوسط الزرعي FertiCult flushing medium دور واضح في تنشيط معالم النطف وبالتالي يكون له دور في زيادة فرص نجاح عمليات الاخصاب الخارجي .

المقدمة

تعد قلة حركة النطف واحدة من أهم الاسباب الشائعة في عدم خصوبة الذكر اذ ان حوالي اكثر من 20% من الرجال غير الخصبين يعانون من وهن النطف Asthenospermia(Curi *et al* ., 2003)، فالتحرك النشط والحركة التقدمية الجيدة هي الشيء الضروري للنطف السوية لكي يتعين عليها اختراق مخاط عنق الرحم والهجرة خلال القناة التناسلية الانثوية للوصول الى قناة فالوب ، واتمام عملية اخصاب البويضة (Aitken *et al*., 1983)، ويعد المريض مصاباً بوهن النطف عندما تكون النسبة المئوية للنطف المتحركة اقل من 50% في ظرف ساعة واحدة من القذف (WHO,2010).و المستنبتات المستخدمة لتنشيط المني البشري والذي ينتج بفعلها نوعية مني جيدة تعد واحدة من بين مختلف العوامل المهمة في نجاح عملية علاج عدم الخصوبة في الزجاج (Kaewnoonual *et al*., 2008)، ويحتوي الوسط الزرعي FertiCult flushing medium على البيكاربونات والاملاح والكلوكوز والبايروفيت واللاكتيت والانسولين والبومين مصل الدم (Bandularatne and Bongso , 2002) ، وان تحضير النطف عن طريق استخدام وسط يحوي على الكلوكوز واللاكتيت والبيكاربونات ينتج عنه زيادة معنوية في الحركة التقدمية للنطف بنسبة 16 - 40% من الخلايا النطفية (Holt and Harrison , 2002) . وتعالج حالات العقم المتمثلة بمتلازمة قلة ووهن وتشوه النطف بوساطة عملية التلقيح الاصطناعي باستخدام نطف الزوج Artificial insemination by husband (AIH)وايضاً باستخدام عملية الحقن المجهري داخل سايتوبلازم البيضة اذ اظهرت نتائجها في داخل الرحم نسبة نجاح جيدة في علاج العقم المفسر وغير المفسر (Motazedian *et al*., 2010).

المواد وطرائق العمل

تم اجراء البحث في مركز الخصوبة /مدينة الصدر الطبية/محافظة النجف الأشرف ،جمعت عينات السائل المنوي في اطباق بتري نبيذه Petri–dishes نظيفة ومعقمة وجافة بطريقة الاستمناء باليد Masturbation بعد مدة انقطاع Abstinence period لا تقل عن ثلاثة أيام ولا تزيد عن خمسة أيام،ثم وضعت العينات قبل فحصها في الحاضنة بدرجة 37 ْم للسماح لها بالاماعة الطبيعية و تم فحصها عيانياً ومجهرياً بعد تثبيت زمن الاماعة Liquefaction time كالأتي :

الفحص العياني - Macroscopic Examination

زمن الاماعة Liquefaction Time: يمتاز المني المتدفق حديثاً بكونه سائلاً وسرعان ما يتحول الى حالة شبه صلبة Semisolid أو متخثرة تحت تأثير أنزيم Protienkinase الذي تفرزه الحويصلات المنوية، وتحدث الاماعة الطبيعية خلال 15 – 20 دقيقة بعد جمع العينة.

الاس الهيدروجيني PH: تم قياس الاس الهيدروجيني بعد الاماعة بوساطة أشرطة خاصة لهذا الغرض(Universalindkator PH (Germany مرقمة من 1-14، ويكون الأس الهيدروجيني للسائل المنوي نوعاً ما قاعدياً يتراوح ما بين 7.0 – 8.5 (WHO,2010) .

حجم السائل المنوي : تم قياس حجم العينة بوساطة أنابيب الاختبار المدرجة (المرشدي، 2007).

اللزوجة Viscosity: تم تقدير لزوجة المني المائع من خلال ملاحظة الخيط المخاطي ، وذلك بدفق العينة من ماصة باستور،ويعد قوام المني سوياً عند تدفقه قطرة فقطرة من الماصة، بينما يكون القوام شاذاً عندما تكون العينة خيطاً أكثر من 3سم (WHO,1999).

الفحص المجهري Microscopic Examination :- اخذت قطرة واحدة من كل عينة ممزوجة جيدا بعد الاماعة التامة ووضعت القطرة في مركز جهاز ماكلر(Makler chamber(Sperm meter وغطيت بغطاء الجهاز ثم فحصت العينات تحت القوة 10X ومن ثم تحت القوة 40X قبل التنشيط وبعده لتحديد معالم النطف الاتية :-

تركيز النطفSperm concentration:–تم تقدير تركيز النطف من وضع20مايكروليتر من عينة السائل المنوي في حفرة خاصة في مركز العداد والمخصصة لهذا الغرض ،و تم حساب عدد النطف في عشرة مربعات بخط مستقيم من بين 100 مربع.

النسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف

Percentage of Sperm Motility and Grade of Sperm Activity

تم تحديد النسبة المئوية للنطف المتحركة باستخدام جهاز Sperm meter وحسب المعادلة الاتية :

$$\text{النسبة المئوية للنطف المتحركة} = \frac{\text{عدد النطف المتحركة حركة تقدمية}}{\text{عدد النطف الكلي}} \times 100$$

وتم تحديد درجة نشاط النطف بالاعتماد على ما ورد في دليل منظمة الصحة العالمية (WHO,1999) وذلك وفق التدرج الاتي :-

0 – نطف غير متحركة ،1- نطف ذات حركة موضعية،2- حركة متوسطة تقدمية بطيئة ،3- حركة جيدة تقدمية مستقيمة ،4- حركة جيدة جداً تقدمية خطية مستقيمة .

معامل حركة النطف Sperm Motility Index (SMI): تكون بعض العينات ذات نسبة مئوية عالية لحركة النطف ولكنها ذات درجة نشاط قليلة ، بينما تظهر عينات آخرى نسبة مئوية للنطف المتحركة قليلة ودرجة نشاط عالية ، لذلك سعت البحوث الى قياس معامل حركة النطف للربط بين هذين المعلمين المهمين (Bartoov *et al.*,1991) ويحسب معامل حركة النطف من حاصل ضرب:

SMI = النسبة المئوية للنطف المتحركة × درجة نشاط النطف

النسبة المئوية للنطف السوية Percentage of Normal Sperm Morphology : تم تميز شكل النطف باستخدام Spermac stain kit قبل التنشيط وبعده (Oettle,1986)، وفحصت بالمجهر الضوئي تحت العدسة الكبرى (100x) باستعمال Oil immersion وحسبت النسبة المئوية للنطف السوية وفق المعادلة الاتية :

$$\text{النسبة المئوية للنطف السوية} = \frac{\text{عدد النطف السوية}}{\text{عدد النطف الكلي}} \times 100$$

ويعد المريض مصاباً بتشوه النطف اذا كانت النسبة المئوية للنطف السوية اقل من 30 % . (WHO,2010)

تركيز خلايا الدم البيض والخلايا البلعمية Leukocytes and Phagocytes :Concentration:تم حساب تركيز خلايا الدم البيض والخلايا البلعمية بأستخدام (LeucoScreen kit, Fertipro).

تنشيط معالم النطف:- تم تحديد مرضى وهن النطف المعتدل والحاد واجراء عملية تنشيط النطف وتحضيرها لعمليات التلقيح الصطناعي بثلاث تقنيات مختلفة وبمدد حضن(30-45-60)وكالاتي:

اولاً:- تقنية السباحة للاعلى Swim up Technique: تم وضع 0.5 مل من المستنبت الجاهز في انبوبة اختبار مدرجة ثم دفع 0.2 مل من السائل المنوي بوساطة ماصة باستور الى قعر الانبوبة برفق وحضنت بصورة مائلة في 37˚م بالحاضنةبالمدد السابقة المشار اليها اعلاه . بعدها تم اخذ قطره من السطح العلوي لغرض الفحص عند كل مدة حضن (المرشدي ، 2006).

ثانياً:- تقنية الغسل والنبذ Centrifugation Wash-Out Technique:استعملت تقنية الغسل والنبذ (الهادي ،1997) حيث تم وضع 0.5 مل من المستنبت مع 0.2 مل من السائل المنوي ثم اجريت عملية النبذ بقوة 2000 دورة / دقيقة لمدة 5 دقائق . وازيل الطافي بعد عملية النبذ وغطيت الحبيبة النطفية pellet بـ 0.5 مل من المستنبت ثم وضعت الانبوبة في الحاضنة بشكل مائل وفحصت عند كل مدة حضن مشار اليها سابقاً بأخذ قطرة من السطح العلوي.

ثالثاً :- تقنية الخلط بعد الغسل والنبذ Mixing After Washing and Centrifugation: يوضع 0.5 مل من المستنبت مع 0.2 مل من السائل المنوي وينبذ بقوة 2000 دورة /دقيقة لمدة 5 دقائق ثم ازيل الطافي وغطيت الحبيبة النطفية pellet بـ 0.5 مل من المستنبت وتمزج برفق بوساطة ماصة باستور بعدها تحضن بالمدد الثلاث المذكورة مسبقا بصورة مائلة وتفحص باخذ قطره من السطح العلوي عند كل مدة.

التحليل الاحصائي

تم استعمال البرنامج الاحصائي (SPSS 10.01) الإصدار 1999 في تحليل النتائج باستخراج المتوسط الحسابي و الخطأ القياسي(Mean+SE)، وكذلك تم استعمال اختبار T-test لتحليل الاختلافات المتواجدة بين المجاميع الرئيسة والثانوية تحت مستوى احتمالية($P<0.05$) (George *et al*.,2003).

النتائج والمناقشة

بينت نتائج الدراسة الحالية وباستخدام الوسط الزرعي FertiCult flushing medium ولجميع التقنيات ولمختلف اوقات الحضن حدوث نقصاً معنوياً ($P<0.05$) في تركيز النطف مقارنة بقيمها قبل التنشيط ، وهذا يتفق مع ما توصل اليه الجراح (2002) ، الى انخفاض في تركيز النطف بعد التنشيط مقارنة بمجموعة السيطرة قبل التنشيط ، وربما يعود السبب الى انخفاض تركيز النطف الى بقاء النطف التي لا تمتلك القابلية على الحركة في قعر انبوبة التنشيط ولأثر استخدام التقنيات الثلاث في اقصاء النطف عديمة الحركة والميتة وغير الناضجة ،كما اظهرت نتائج الدراسة حصول انخفاضاً معنوياً ($P<0.05$) في تركيز النطف وخاصة باستعمال تقنية السباحة للأعلى وبمدد التحضين الثلاث (30 - 45 - 60) دقيقة في حالتي وهن النطف المعتدل ، وقد جاءت هذه النتائج منسجمة مع ما توصل اليه الشمرتي (2008) بأن استعمال تقنية السباحة للأعلى (مستنبت آيرل لوحده ومستنبت آيرل+ فيتامين E) سبب نقصاناً معنوياً ($P<0.05$) في تركيز النطف مقارنة مع تقنيتي السباحة للاسفل والخلط ،ويعزى هذا النقصان الى بقاء النطف غير المتحركة والنطف الميتة في قعر انبوبة التنشيط ، والنطف ذات السرعة الجيدة تكون وحدها قادرة على السباحة للأعلى ومقاومة تأثير الجاذبية(Stovall *et al*.,1994) ،(الجداول 1،2،3) وبينت نتائج الدراسة الحالية عند تنشيط النطف خارج الجسم الحي باستعمال الوسط الزرعي حدوث زيادة معنوية ($P<0.05$) في النسبة المئوية للنطف المتحركة ، ودرجة نشاط النطف ، ومعامل حركة النطف قياساً بقيمها قبل التنشيط وبأستخدام تقنية السباحة للأعلى ،، وقد يعزى ذلك الى قابلية النطف على الاستفادة من المادة الغذائية والايونات اللاعضوية الموجودة في الوسط خلال مدد التحضين حيث تعمل على تجهيز المايتوكوندريا بالمواد الغذائية(الكلكوز) الضرورية لتحفيزها على توليد الطاقة اللازمة لحركة النطف عن طريق تحول مركب الادينوسين ثلاثي الفوسفات (ATP) الى مركب الادينوسين ثنائي الفوسفات (ADP)، وانتقال الطاقة من المايتوكندريا الى ذيل النطفة لزيادة الحركة (Kasai *et al*.,2002)و بينت نتائج هذه الدراسة حدوث انخفاضاً معنوياً ($P<0.05$) في النسبة المئوية للنطف غير السوية بعد التنشيط مقارنة بقيمتها قبل التنشيط بأستخدام تقنية السباحة للأعلى لظاهرتي وهن النطف المعتدل و الحاد وجاءت هذه النتائج منسجمة مع ما اكده Harris وجماعته (1981) من حصول نقص معنوي في النسبة المئوية للنطف ذات الاشكال غير السوية السابحة للأعلى باستخدام تقنية السباحة للأعلى ، وربما يعود السبب الى ان النطف ذات الاشكال

السوية، والتي تمتاز بنشاطها العالي هي وحدها قادرة على الصعود الى الأعلى بتحفيز وسط التنشيط ، فيما تبقى النطف ذات الاشكال غير السوية التي تتميز بحركتها الضعيفة في قعرانبوبة التنشيط (Makler *et al* .,1998) أشارت نتائج الدراسة حصول نقصاً معنوياً ($P < 0.05$) في تركيز خلايا الدم البيض باستخدام تقنية السباحة للأعلى وبمدة 60 دقيقة مقارنة بتركيزها قبل التنشيط وبعده (الجدول3) وربما تعزى هذه النتيجة إلى بقاء هذه الخلايا في قعر أنبوبة التنشيط لكونها غير متحركة ولا يمكنها الوصول للأعلى حيث تعمل قوة الجاذبية على بقائها في قعر الأنبوبة واشارت الدراسات ان عملية النبذ لعينات السائل المنوي تنشط خلايا الدم البيض بتركيز اقل من1×10^6 / خلية وتحفزها لانتاج الانواع الاوكسجينية الفعالة وتكوين اوكسيد النتريك Shekarriz *et al.*, (1995) ، كما ان تقنية الخلط تزيد من تركيز خلايا الدم البيض بسبب تأثير عملية الخلط مع الوسط في صعود هذه الخلايا إلى السطح العلوي للأنبوبة، وتتفق هذه النتيجة مع ما توصل إليه الخزرجي (2007) في ان معدل اقصاء خلايا الدم البيض باستخدام تقنية السباحة للأعلى كان أعلى من معدل إقصاء هذه الخلايا عند استخدام تقنية السباحة للأسفل والخلط.

الجدول(1) تأثير استخدام الوسط الزرعي FertiCult Flushing Medium في تنشيط معالم النطف للمرضى المصابين بوهن النطف المعتدل بثلاث تقنيات مختلفة وبمدة حضن 30 دقيقة.

المعالم المدروسة	قبل التنشيط	بعد التنشيط		
		السباحة للأعلى	الغسل والنبذ	الخلط بعد الغسل والنبذ
تركيز النطف ($\times10^6$ نطفة/مل)	a 54.6 ±10.7	b 9.2 ± 3.3	b 12.7 ± 5.2	c 22.7 ± 3.9
النسبة المئوية للنطف المتحركة	a 36.4 ±2.7	b 49.2 ± 5.1	c 44.1 ± 3.6	a 32.5 ± 10.8
درجة نشاط النطف	a 2.2 ±0.24	b 3.3 ± 0.09	c 3 ± 0.2	a 2.1 ± 0.2
معامل حركة النطف	a 79.8 ±9.3	b 151.7 ± 15.6	c 134.9 ±21.1	a 82.6 ± 24.1
النسبة المئوية للنطف غير السوية	a 55 ±3.01	b 32.6 ± 5.1	c 37.7 ± 3.9	d 44.5 ± 4.5
تركيز خلايا الدم البيض ($\times10^6$خلية/مل)	a 4.5 ±3.01	b 0.5 ± 0.5	b 0.9 ± 0.6	c 1.7 ± 0.9

القيم تمثل المعدل ± الخطأ القياسي S.E

عدد العينات = 11

(P<0.05) الحروف المتباينة دلاله على المعنوية .

الجدول(2) تأثير استخدام الوسط الزرعي FertiCult Flushing Medium في تنشيط معالم النطف للمرضى المصابين بوهن النطف المعتدل بثلاث تقنيات مختلفة وبمدة حضن 45 دقيقة.

المعالم المدروسة	قبل التنشيط	بعد التنشيط		
		السباحة للأعلى	الغسل والنبذ	الخلط بعد الغسل والنبذ
تركيز النطف ($\times 10^6$ نطفة/مل)	a 56.5 ±9.6	b 13.6 ± 3.6	c 18.3 ± 3.8	d 23.4 ± 5.7
النسبة المئوية للنطف المتحركة	a 35.5 ±3.01	b 57 ± 5.4	c 47.8 ± 4.5	a 33.1 ± 4.2
درجة نشاط النطف	a 1.7 ±0.3	b 3.30 ± 0.2	c 2.8 ± 0.2	a 1.6 ± 0.1
معامل حركة النطف	a 60.7 ±8.1	b 187.1 ±14.3	c 136.3 ±15.7	a 59.1 ± 10.6
النسبة المئوية للنطف غير السوية	a 69.5 ±6.03	b 28.2 ± 3.3	c 32.7 ± 4.2	d 46.8 ± 2.7
تركيز خلايا الدم البيض ($\times 10^6$خلية/مل)	a 4.8 ±0.9	b 0.1 ± 0.03	c 0.3 ± 0.09	d 1.4 ± 0.12

القيم تمثل المعدل ± الخطأ القياسي S.E

عدد العينات = 11

(P<0.05) الحروف المتباينة دلاله على المعنوية .

الجدول(3) تأثير استخدام الوسط الزرعي FertiCult Flushing Medium في تنشيط معالم النطف للمرضى المصابين بوهن النطف المعتدل بثلاث تقنيات مختلفة وبمدة حضن 60 دقيقة.

المعالم المدروسة	قبل التنشيط	بعد التنشيط		
		السباحة للأعلى	الغسل والنبذ	الخلط بعد الغسل والنبذ
تركيز النطف ($\times 10^6$ نطفة/مل)	a 57.1 ±6.6	b 10.1 ± 1.7	b 11.3 ± 2.02	c 16.5 ± 3.6
النسبة المئوية للنطف المتحركة	a 35.4 ±2.9	b 63.7 ± 3.8	c 48.2 ± 10.1	a 34.8 ± 4.05
درجة نشاط النطف	a 2 ±0.3	b 3.2 ± 0.2	c 2.7 ± 0.2	a 2.1 ± 0.3
معامل حركة النطف	a 71.3 ±8.4	b 200.7 ±14.5	c 130.5 ±15.9	a 70.4 ± 17.3
النسبة المئوية للنطف غير السوية	a 73.3 ±3.8	b 20.6 ± 4.3	c 30 ± 2.9	d 44.6 ± 4.3
تركيز خلايا الدم البيض ($\times 10^6$خلية/مل)	a 2.7 ±0.3	b 0 ± 0.0	c 0.08 ± 0.02	d 0.4 ± 0. 2

القيم تمثل المعدل ± الخطأ القياسي S.E

عدد العينات = 12

($P<0.05$) الحروف المتباينة دلاله على المعنوية .

المصادر:

الجراح ، ابتسام عباس ناصر (2002). دراسة تأثير استخدام بعض الهرمونات في تنشيط النطف في الزجاج للمرضى المصابين بوهن النطف. رسالة ماجستير ، كلية العلوم ، جامعة بابل.

الخزرجي ، انعام مهدي داوود (2007) . تنشيط النطف خارج الجسم لمرضى العقم المصابين بقلة النطف ووهنها باستخدام تقنيات مختلفة . اطروحة ماجستير ، كلية التربية، جامعة الكوفة.

الشمرتي ، ضرغام فالح حسن (2008). تأثير فيتامين E في تنشيط معالم النطف في الزجاج لمرضى العقم المصابين بقلة النطف ووهنها . رسالة ماجستير ، كلية العلوم ، جامعة بغداد.

المرشدي، صاحب يحيى (2006) . تأثير بيروكسيد الهيدروجين وبعض مضادات الاكسدة في معايير النطف البشرية خارج الجسم الحي . اطروحة دكتوراه ، كلية العلوم ، جامعة بابل.

المرشدي ، صاحب يحيى (2007). تقييم حجم المني باستخدام الانابيب المدرجة او بالوزن للرجال سوي النطف . مجلة القادسية للعلوم الصرفة ، العدد 3(12):64-71.

الهادي ، فارس ناجي عبود (1997) . استخدام التقنية الطبقية المزدوجة الترسيبية في تنشيط مرضى العقم المصابين بقلة ووهن النطف. اطروحة دكتوراه، كلية العلوم ،جامعة بغداد.

Aitken, R.J.; Ross, A. and Less, M.M.(1983). Analysis of sperm function in Kartagener ٌs syndrome. Fertil. Steril.;49:133 – 137. od; 58.

Bandularatne , E. and Bongso, A.(2002). Evaluation of human sperm function after repeated freezing and thawing. J. Androl; 23 (2) : 242 – 249.

Bartoov, B.; Ben – Barak, J. and Mayevsky, A.(1991). Sperm motility index: new parameter for human sperm evaluation. Fertil. Steril; 56:108 – 112.

Curi, S.M.; Ariagno, J.I.; Chenlo, P.H.; Mendeluk, G.R.; Pugliese, M.N.; Sardi, L.M.; Repetto, H.E. and Blanco, A.M.(2003). Asthenozoospermia: analysis of a large population arch. Androl; 49:343 – 349.

George, A.; Darren, G.; Mallery, D. and Paul, C.(2003). SPSS for windows step by step. Boston, Pearson Education. Inc, 55 – 65.

Harris , S.J.; Milligan , M.P.; Masson ,G.M.and Dennis , K.J.(1981). Improved separation of motile sperm in astherospermia and its application to artifical insemination homologous (AIH).Fertil. Steril ; 36:219 – 221.

Holt ,W.V. and Harrison ,R.A.P.(2002). Bicarbonate stimulation of boar sperm motility via aprotein Kinase A-dependent pathway :deficiencies in proteinkinase activation .J.Androl;23:557-565.

Kaewnoonual, N.; Chiamchanya, C.; Visutakul, P.; Mauochantr, S.; Chaiya, J. and Tor – Udom, P.(2008). Comparative study of semen quality between pre – washed and post – washed with 3 sperm preparation media. Thammasat Medical Journal; 8(3) : 292 – 300.

Kasai, T.J.; Ogawa,K.; Mizuno,K.; Nagea, S.; Uchida, Y.; Ohta,S.; Fujie,M.;Suzuki,K.;Hirata,S. and Hoshi, K.(2002). Relationship between sperm mitochondrial membrane potential, sperm motility and fertility potential. Asian. J. Androl; 4:97 – 103.

Makler, A.; Stoller, J. and Shiran, E.M. (1998). Dynamic aspects concerned with mechanism of separating motile sperm from non motile sperm, leukocytes, and debris with the use of high – density percoll. Gradients. Fertil. Steril; 70:961 – 966.

Motazedian, S.; Hamedi, B.; Zolghadri, J.; Motjhedi, K. and Asadi, N.(2010). The effect of sperm morphology on 141 outcome in cases with unexplained and male factor infertility. Iranian. Journal of Reproductive Medicine ; 8(1):41 – 44.

Oettle , E.E.(1986) . Using a new acrosome stain to evaluate sperm morphology . Vet. Med; 81 – 263.

Shekarriz, M.; Sharma ,R.K.;Thomas,A.J. and Agarwal ,A.(1995). Positive myeloperoxidase staining (Endtz test) as an indicator of excessive reactive oxygen species formation in semen,J. Assist. Reprod.Gent;12:70-74.

Stovall , D.W.; Guzick , D.S.; Berga , S.L.; Krasnow , J. S. and Zelezink , A . J. (1994) . Sperm recovary and survival : Two tests that predict *in vitro* fertilization outcome . Fertil. Steril ; 62 : 1244 – 1249.

World Health Organization (1999). Laboratory manual for the semen and sperm cervical mucus interaction, 4th ed , Cambridge University press, Cambridge.

World Health Organization (2010). Laboratory manual for the examination and processing of human semen 5th ed, Cambridge University press, Cambridge.

Role The FertiCult Flushing Medium in Sperm Parameters Activation *In Vitro* of Infertile Patients Suffering from Moderate Asthenospermia

Samah Amer Hammoud Aalobeidi — Science College

Sahib Yahia Al-Morshidy — Medicine College

University of Kufa

Abstract

This study was included examination and activation of 34 samples for asthenozoospermic men.The research was aimed to improvement of infertility capacity and activation sperm parameters in vitro by using FertiCult flushing medium ,three techniques (swim up-centrifugation wash-out-mixing after washing and centrifugation).The result was revealed significant increase ($p<0.05$) of sperm motility percent ,grade of sperm activatiy and sperm motility index so significant decrease ($p<0.05$) of sperm concentration ,non normal sperm morphology percent and leukocytes concentration after using the medium and swim up in 60 min .In conclusion,the FertiCult flushing medium influence of the result after activation and increase of improvement the chance in vitro fertilization.