

ERKEK İNFERTİLİTESİNDE SEMEN MİKROBIYOM DİSBIYOZU

SEMEN MICROBIOME DYSBIOSIS IN MALE INFERTILITY

Hatice Nur ŞEFLEK¹, Fatma Zehra ERBAYRAM¹, Semih TOKAK²

¹KTO Karatay Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı

²KTO Karatay Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalı

³KTO Karatay Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı

ÖZET

İnfertilite, önemli bir sağlık sorunudur ve dünya çapında giderek artmaktadır. Her iki partnerin de ilk çocuk sahibi olma yaşının ileri yaşlara kayması ve yaşam tarzındaki değişiklikler, infertilite insidansının artışına katkıda bulunmuştur. Çiftlerde infertilite durumunun %50'si erkek infertilitesine bağlıdır. İn vitro çalışmalar, bakterilerin sperm fonksiyonunu olumsuz etkileyebileceğini göstermektedir. Bakterilerin; hareketli spermilerin aglütinasyonu, apoptoz indüksiyonu, immobilizasyon faktörlerinin üretimi ve akrozom reaksiyonunun bozulması da dahil olmak üzere, sperm fonksiyonunu etkileyen birçok mekanizmada önemli rolü olduğu ortaya konulmuştur. Azoospermik hastalarda biyolojik çeşitlilikte de genel bir azalma olduğu gösterilmiştir. Kültüre dayalı çalışmalar ile, semen örneklerinde geniş bir bakteri spektrumu saptanmış, bununla beraber semen mikrobiyomunun sperm fonksiyonu ve infertilite üzerindeki etkisine ilişkin kanıtlar çelişkili olmaya devam etmektedir. Daha önce yapılan çalışmalarda semende birkaç bakteri türü erkek infertilitesi ile ilişkilendirilmiştir. *Anaerococcus* varlığı ile düşük sperm kalitesi, *Prevotella* varlığı ile anormal sperm hareketliliği, *Lactobacillus* varlığıyla normal sperm morfolojisinin ilişkili olduğu bildirilmiştir. Yeni nesil dizileme (NGS) tekniklerinin kullanılması, insan mikrobiyomunun daha iyi anlaşılmasını sağlamış ve disbiyozun insan sağlığını etkilediği kanıtlanmıştır. Yakın zamana kadar infertil erkeklerdeki mikrobiyom çalışmalarının birçoğu polimeraz zincir reaksiyon (PCR) tabanlı ya da kültür yöntemine dayalı çalışmalar iken seminal mikrobiyomun infertilite üzerindeki etkisini karakterize etmek için yeni nesil dizileme tekniklerini kullanan sınırlı sayıda yayınlanmış veri bulunmaktadır. Bu derlemede amaç, infertil erkeklerin semendeki bakteri kompozisyonunu, yeni nesil dizileme teknikleriyle araştıran güncel çalışmalara odaklanarak mikrobiyota ile semen kalitesi arasındaki ilişkinin kapsamlı analizine katkıda bulunmaktır. Bu konuda yapılacak çalışmalar, seminal mikrobiyotanın infertil erkeklerdeki rolünün daha iyi anlaşılmasına olanak sağlayacaktır.

ANAHTAR KELİMELEER: Erkek infertilitesi, Semen, Metagenomik, Mikrobiyota, NGS.

ABSTRACT

Infertility is a significant health issue that is increasing globally. The shift in the age at which both partners have their first child to older ages, combined with lifestyle changes, has contributed to the rise in infertility rates. Approximately 50% of infertility cases in couples are attributed to male infertility. In vitro studies have shown that bacteria can negatively affect sperm function. Bacteria play a crucial role in various mechanisms that influence sperm function, including the agglutination of motile sperm, induction of apoptosis, production of immobilization factors, and disruption of the acrosome response. A general decrease in biodiversity has also been demonstrated in azoospermic patients. Culture-based studies have identified a wide range of bacteria in semen samples, but evidence regarding the effects of the semen microbiome on sperm function and infertility remains inconclusive. Previous studies have linked certain types of bacteria in semen to male infertility. It has been reported that the presence of *Anaerococcus* is associated with low sperm quality, the presence of *Prevotella* with abnormal sperm motility, and the presence of *Lactobacillus* with normal sperm morphology. The use of next-generation sequencing (NGS) techniques has provided a better understanding of the human microbiome and has shown that dysbiosis (microbial imbalance) affects human health. Until recently, most microbiome studies in infertile men were based on polymerase chain reaction (PCR) or culture-based methods. However, limited published data have used next-generation sequencing techniques to characterize the effect of the seminal microbiome on infertility. This review aims to contribute to the comprehensive analysis of the relationship between the microbiota and semen quality by focusing on recent studies that investigate the bacterial composition in the semen of infertile men using next-generation sequencing techniques. Future studies on this topic will enhance our understanding of the role of the seminal microbiota in male infertility.

KEYWORDS: Male infertility, Semen, Metagenomics, Microbiota, NGS.

Geliş Tarihi / Received: 31.05.2022

Kabul Tarihi / Accepted: 14.10.2022

Yazışma Adresi / Correspondence: Dr. Hatice Nur ŞEFLEK

KTO Karatay Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı

E-mail: haticenur.seflek@karatay.edu.tr

Orcid No (Sırasıyla): 0000-0003-2969-2322, 0000-0002-9305-4782, 0000-0003-2239-0014

GİRİŞ

İnfertilite, bir yıl düzenli korunmasız cinsel ilişkiden sonra gebe kalamama olarak tanımlanır (1). İnfertilite, çiftlerin ~%8-12'sini etkileyerek dünya çapında önemli bir sağlık sorunu haline gelmiştir (2). Yaşam tarzındaki değişiklikler ve her iki partnerin de ilk çocuk sahibi olma yaşının ileri yaşlara kayması, dünya çapında infertilite insidansının dramatik artışına katkıda bulunmuştur (3). Erkeğe bağlı infertilite, vakalarını %50'sini oluşturur ve potansiyel nedenleri arasında prostatit, epididimit gibi ürogenital sistem enfeksiyonları yer alır (4, 5).

İn vitro çalışmalar bakterilerin; hareketli spermelerin aglütinasyonu, apoptoz indüksiyonu, immobilizasyon faktörlerinin üretimi ve akrozom reaksiyonunun bozulması da dahil olmak üzere sperm fonksiyonunun etkilendiği mekanizmalarda önemli etkileri olduğunu ortaya çıkarmış olmakla birlikte, klinik ortamda ürogenital sistem enfeksiyonlarında antibiyotik kullanımını destekleyen ampirik kanıtlar tartışmalıdır. Bu tür patojenlerin in vivo semen parametrelerinde anormalliklere neden olup olmadığı veya tedavinin semen parametrelerinde ve üreme potansiyelinde iyileşme ile sonuçlanıp sonuçlanmadığı konusunda çelişkili veriler bulunmaktadır. İnfertil erkeklerde görülen lökositospermi, yüksek reaktif oksijen türleri (ROS)'nin neden olduğu DNA hasarı ile bağlantılı olup, spermde meydana gelen DNA hasarı ise infertilite ile ilişkilendirilmiştir (6 - 16).

İnsan mikrobiyotası; bakteriler, mantarlar, virüsler, mayalar, arkeler ve protistleri içerir. Bu mikroorganizmaların toplu genetik içeriği "mikrobiyom" olarak bilinir (17). Klinik örneklerde aerob ve anaerob bakterileri saptamak için rutin kültür yöntemlerinin yanında polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemi de kullanılır (18). Bakterileri tanımlamak için bakteri genomunun 16S rRNA gen bölgesini kullanan yeni nesil dizileme (NGS) teknolojilerinin ortaya çıkışı, insan mikrobiyomunun daha doğru tanımlanmasını sağlamış ve bu yeni teknikle daha önce saptanamayan patojenler keşfedilmiştir (19 - 21). 2005 yılında, NGS teknolojilerinin geliştirilmesi ve mikrobiyom analizlerinde 16S rRNA gen dizilemesinin kullanımının başlaması ile birlikte bakteri DNA dizilemesinin büyük ölçüde doğrulanmasına olanak sağlanmış ve analizden önce bakterileri

kültürden izole etme ihtiyacı ortadan kalkmıştır. 2008 yılında, ABD'de NIH Ortak Fon İnsan Mikrobiyom Projesi (HMP) kurulmuş ve beş farklı vücut bölgesindeki (burun pasajları, ağız boşluğu, cilt, gastrointestinal ve ürogenital sistem) habitatlardan elde edilen mikrobiyal topluluklar karakterize edilmiştir (17, 22). Eş zamanlı olarak, Avrupa'da uluslararası mikrobiyom konsorsiyumu, insan bağırsak mikroorganizmalarının genleri ile sağlık ve hastalık arasındaki ilişkileri saptamak amacıyla "İnsan Bağırsak Sisteminin Metagenomikleri (Meta-HIT)" adını verdikleri bir proje başlatılmıştır (17).

Sağlığı korumak ve hastalıklardan kaçınmak için konakçı ve yerleşik mikroorganizmalar arasında simbiyotik bir ilişki gereklidir ve bu ilişkideki bir dengesizlik, disbiyotik bir duruma neden olabilir. Bu disbiyotik durumların bakteriyel vajinozis gibi hastalıklarla ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bakteriyel vajinozis; düşük pH'lı, *Lactobacillus*'un baskın olduğu bir topluluğa sahip "sağlıklı" bir durumdan, daha yüksek pH'lı daha çeşitli bir mikrobiyal topluluğa geçiş ile karakterizedir. Bununla birlikte, simbiyoz ve disbiyoz arasındaki ve bunun tersi arasındaki geçişler öngörülemez süreçlerdir ve nedenleri henüz anlaşılamamıştır (17). Vajinal mikrobiyom üzerine yapılan araştırmalar sonucunda 100'den fazla bakteri türü tanımlanmış ve bunun hamilelik, erken doğum, infertilite, jinekolojik kanser üzerindeki etkisi incelenmiştir (23 - 27). Vajinal mikrobiyom üzerine birçok araştırma yapılmış olmasına rağmen, semen mikrobiyomu hakkında mevcut bilgi azdır ve daha fazla bilgiye ihtiyaç vardır (28).

Bu derlemede PubMed'de 2010 - 2022 yılları arasında İngilizce olarak yayınlanan indeksli makaleler "erkek infertilitesi ve mikrobiyota", "erkek infertilitesi ve metagenomik", "erkek üreme sistemi mikrobiyomu", "semen mikrobiyomu" anahtar kelimeleri kullanılarak incelenmiştir.

Bu derlemedeki amaç; insan semeninde bulunan bakteri tür ve toplulukları, bakteriyospermi prevalansı ve erkek infertilitesi ile ilişkisi, bakteri türleri ve semen kalitesi arasındaki ilişki, seminal mikrobiyomun üreme sağlığı üzerindeki potansiyel etkileri ile ilgili güncel durumu özetlemektir. Özellikle, NGS teknikleri ile çalışılmış, semen mikrobiyom disbiyozu ile erkek infertilitesi arasında bir bağlantı olduğunu gösteren kanıtlar güncel makaleler eşliğinde gözden geçirilmiştir.

SEMİNAL MİKROBİYOM

Ejaküle edilen semen hacminin >%90'ını oluşturan seminal sıvı, epididim, prostat, seminal veziküller, bulboüretral bezler ve periüretral bezlerden salgılanan sıvıların bir karışımını içermektedir (29). Semen hafif bazik olup (pH 7.2–8) içeriği; lipitler, sakkaritler, glikanlar, inorganik iyonlar, bağışıklık bileşenleri, enzimler, nükleik asitler, proteinler ve peptitler ile zenginleştirilmiştir (30, 31). Semen bu zengin içeriği mikroorganizmaların gelişmesi için ideal bir yaşam alanı sağlamaktadır. Seminal veziküller tarafından üretilen fruktoz, spermatozoa için başlıca metabolik enerji kaynağını sağlamakta ve mikroorganizmalar için bir besin maddesi görevi görmektedir (32). Kültür ve PCR bazlı mikrobiyal tanı yöntemlerinin kullanıldığı çalışmalar, semendeki bakterilerin çoğunun kommensal olmadığı, bu bakterilerin enfeksiyondan kaynaklandığı sonucuna varmıştır (30, 33). Bununla birlikte, NGS tekniklerinin kullanıldığı çalışmalar, steril bir erkek üst genital sistem kavramına meydan okumakta ve semenin kendi mikrobiyal topluluğunu barındırdığını öne sürmektedir (34 - 37). Semende bulunan mikroorganizmaların varlığı iyi anlaşılmasına rağmen, kökenleri belirsizliğini korumakta ve mevcut bakteri taksonlarının geçici organizmalar olup olmadığı veya uzun süredir semende bulunup bulunmadıkları henüz bilinmemektedir. Üretranın mikrobiyotası birçok aerobik, anaerobik ve mikroaerofilik bakterilerden oluşmakta, bu da seminal mikrobiyomun üretradan kaynaklanabileceğini düşündürmektedir. Bununla birlikte, semendeki bakteri yükü ilk akım idrarıyla (üretral mikrobiyomu yansıtan) karşılaştırıldığında semendeki bakteri yükünün önemli ölçüde daha fazla olduğu, toplam bakteri sayısının, ilk akım idrarında (10^2 cfu/ml) seminal sıvıya (10^4 cfu/ml) oranla daha düşük olduğu belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar, tür çeşitliliği açısından değerlendirildiğinde seminal mikroorganizmaların çoğunun üst genital sistemden kaynaklanabileceğini göstermektedir (48). Bu veriler doğrultusunda seminal veziküller, prostat ve testislerin benzersiz mikrobiyomlara sahip olduğu gösterilmiştir (32, 38, 39).

Metastatik olmayan seminomlu erkeklerden alınan neoplastik olmayan testis örneklerinde

en fazla bulunan filumlar; Firmicutes (~%40), Proteobacteria (~%35), Actinobacteria (~%20) ve Bacteroidetes'tir (~%5)(38). İyi huylu prostat doku örneklerinde ise; Firmicutes (~%25), Proteobacteria (~%8.5) ve Actinobacteria (%66.5) olarak rapor edilmiştir (39). İnsanda seminal mikrobiyomunun değerlendirildiği farklı çalışmalardan elde edilen verilere göre, semen içindeki bakteri filumlarından; Firmicutes hastaların ~%50'sinde, Proteobacteria hastaların ~%25'inde, Actinobacteria ve Bacteroidetes ise hastaların ~%25'inde gösterilmiştir (33, 35, 40). Aynı bakteri filumunun erkek genital sisteminin farklı bölgelerinde hakim olduğuna dair bu bulgular, seminal mikrobiyomun önemli bir bölümünün üst genital sistemden kaynaklanabileceği fikrini desteklemektedir. Üst genital sisteme ek olarak, semendeki mikrobiyal kaynakların, bağırsaktan veya oral mikrobiyomdan çıkan bakterilerin hematojen veya lenfogen yayılımına bağlı olduğu düşünülmektedir (41, 42). Özetle seminal mikrobiyomun, idrar, üretra, koronal sulkus'ta tespit edilen bakterileri içeren farklı ürogenital sistem mikrobiyomlarından ve potansiyel olarak vajen, bağırsak, ağız veya kandan transfer edilen bakterilerin de katkıda bulunduğu ortak bir mikrobiyal topluluğa ait olduğu kabul edilmektedir (33, 41, 42).

Biyofilmlerin oluşumu da, seminal mikrobiyomu anlama çabalarını daha da karmaşık hale getirmektedir. Biyofilmler; polisakkaritler, proteinler ve küçük moleküllerden oluşan koruyucu bir dış katmana sahip üç boyutlu yapılardır (43). Bu yapılar hem iç hem de dışta bakteri katmanına sahiptir. Biyofilm oluşumu, bakteriler için konak savunmasına ve antimikrobiyal tedaviye karşı koruma sağlamaktadır (43, 44). İnsan sperminde tanımlanan korineform bakteri suşlarının üçte biri biyofilm oluşturabilme yeteneğindedir ve bu suşlar (*Arthrobacter cummingsii*, *Derma-bacter hominis*, *Corynebacterium minutissimum* ve *Actinomyces neuii*) prostat kalsifikasyonlarının yanı sıra prostatit ile de ilişkilidir (43, 45).

Erkeklerden alınan semen analizinin yapıldığı bir çalışmada prostatit benzeri semptomları olan hastaların bakteri ve maya kültürlerinde *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* ve *Staphylococcus haemolyticus* baskın türler olarak tanımlanmış olup tanımlanan 130 ka-

dar bakteri suşunun güçlü veya orta düzeyde biyofilm üreticisi olduğu belirlenmiştir (46). Bu hastaların sadece %10'u, florokinolonlarla 4 haftalık tedaviden sonra semptomlarında azalma ve iyileşme bildirmiş, bu da biyofilm oluşumunun antibiyotik etkinliğini sınırladığı ve kısa süre içinde enfeksiyonun nüksü için potansiyel bir ortam sağladığını ve bu nedenle hastaların tedavisinde biyofilm oluşumunun önemli olduğunu göstermiştir (44, 46).

Sağlıklı erkeklerin seminal mikrobiyomu, infertil erkeklerde veya prostatiti olan hastalarda yapılan çalışmalarda çoğunlukla kontrol grubu olarak araştırılmıştır (34 - 37). Yine de bu veriler, kommensal mikroorganizmaların sağlıklı erkeklerin tüm ürogenital sisteminde yaşayabildiğini düşündürmektedir. Bir dizi çalışma, semen topluluklarının tür kompozisyonunun erkekler arasında büyük ölçüde değiştiği sonucuna varmıştır (34, 36).

Kültüre dayalı çalışmalar, semen örneklerinde geniş bir bakteri spektrumunu ortaya koymuştur. Bir çalışmada, sağlıklı fertil erkeklerden alınan seminal örneklerin %54'ünde bakterilerin ürettiği bildirilmiştir (30). Willén ve ark.'nın (47) vazektomi planlanan sağlıklı erkeklerde altı farklı (semen, prostat salgısı, üretra, koronal sulcus, ilk idrar ve masaj sonrası idrar) örneği analiz ettikleri çalışmalarında analiz edilen 97 semen örneğinin, %83'ünün bakteri (hem aerob hem de anaerob) içerdiği, ancak semende birden fazla bakteri türü varlığının anormal sperm fonksiyonu ile ilişkili olmadığı gösterilmiştir. Ivanov ve ark.'nın (48) 117 örnek ile yaptıkları çalışmada ise, stafilokok (*S. haemolyticus*, *S. capitis* ve *S. hominis*), korinebakteriler (*C. genitalium* ve *C. pseudogenitalium*) ve laktik asit bakterileri de (*Lactobacillus* ve *Streptococcus*) dahil olmak üzere çoğunlukla aerotoleran bakteriler saptanmıştır. Kültüre dayalı birkaç çalışma, sağlıklı kontrollerden alınan sperm numunelerinin prostatitli hastalardan alınan numunelere göre toplam bakteri konsantrasyonunun önemli ölçüde düşük olduğu ve semenlerindeki tür çeşitliliğinin daha az olduğunu bildirmiştir (49 - 51).

Filum düzeyinde, semende en fazla sayıda bulunan filum Firmicutes olup, bunu Bacteroidetes, Proteobacteria ve Actinobacteria izlemektedir (35, 36, 40). Sağlıklı erkeklerden alınan semen

ile prostatitli erkeklerden alınan örneklerin karşılaştırıldığı bir çalışmada, sağlıklı kontrollerde prostatitli hastalara kıyasla laktik asit bakterilerinin özellikle *Lactobacillus iners* (*L. iners*) türleri yoğun olarak bulunmuştur. *L. iners*, vajen mikrobiyomu ile ortak bir bileşen olup, kadınların yaklaşık üçte birinde baskındır ve bakteri erkek ürogenital yolunda semende %14 ve idrarda %12 oranında tespit edilmiştir (52, 53). Lakto-basiller, insan vajeninde, ağız boşluğunda ve mide-bağırsak yolunda yaygın olarak bulunmakta ve burada hem ekzojen hem de endojen enfeksiyonlara karşı koruyucu işlevlere sahip oldukları düşünülmektedir (32, 33). Semende baskın bakteriler arasında da yer aldıkları için, bu bakterilerin erkek genital sisteminde benzer işlevler üstlendiği tahmin edilmektedir. Semen kalitesi yüksek olan örneklerde *Lactobacillus*'un baskın olup, düşük kaliteli örneklerde ise *Prevotella* veya *Pseudomonas*'ın baskın olduğu belirlenmiştir. Ayrıca laktobasillerin sperm lipid peroksidasyonunu önlediği, sperm hareketliliğini ve canlılığını koruduğu gösterilmiştir (54).

SEMİNAL MİKROBİYOM ve İNFERTİLİTE

Erkeklerde görülen infertilite faktörleri arasında genetik, immünolojik ve anatomik nedenler yer almakta ancak en önemli katkısı erkek genital sistemindeki enflamasyon yapmaktadır (33, 54). Enflamasyon; aksesuar bezlerin sekretuar kapasitesinin bozulmasına, oksidatif strese, seminal yolun anatomik obstrüksiyonuna veya doğrudan spermatozoa üzerinde etkili olan mikroorganizmalar dahil olmak üzere çeşitli yollarla semen kalitesinin bozulmasına neden olmaktadır (30, 35). Bu mikroorganizmalar; reaktif oksijen türleri ve inflamatuvar sitokinlerin aracılığı olmaksızın ve doğrudan enflamasyona neden olmadan etki ederek, ya mikroorganizmanın spermatozoona doğrudan yapışması ya da sperm motilitesini ve/veya değiştirebilen çözünür faktörlerin üretilmesi yoluyla sperm fonksiyonunu doğrudan değiştirmektedir (30, 35). Rehewy ve ark. (55) infertilite kliniğine başvuran sağlıklı fertil erkeklerle asemptomatik erkeklerin semen kültürlerini karşılaştırdığı çalışmada, infertil erkeklerde sağlıklı erkeklere göre çok daha fazla bakteri türü ve sayısı saptanmıştır (16'ya karşı 5 farklı tür). Ayrıca seminal plazmanın antibakteriyel etkisinin infertil erkeklerde oldukça düşük olduğu belirlenmiştir. Balmelli

ve ark. (56) infertilite kliniğine başvuran 3.196 erkekten alınan semen örneklerini incelemiş ve örneklerin %9.8'inde *Bacteroides ureolyticus* (yeni adıyla *Campylobacter ureolyticus*)'u tanımlamıştır (57). Araştırmacıların yapmış olduğu çalışmada bu bakteriler ile kısa kuyruklu sperm sayısında artış ile ilişkilendirilmiştir. Bu bakterilerin veya onun toksinlerinin henüz bilinmeyen mekanizmalarla sperm morfolojisini ve işlevini etkileyebileceği kanaatine varılmıştır. Ayrıca, bu bakterinin varlığı toplam fruktoz konsantrasyonunun azalmasıyla ilişkilendirilmiş; bu anaerobik mikroorganizmanın özellikle seminal vezikülleri kolonize edebileceği öne sürülmüştür.

Semen analizinde PCR temelli çalışmalar ile geniş bir bakteri spektrumu saptanmıştır (58, 59). Bu bakterilerin büyük çoğunluğu anaerobik özellikte olup, sağlıklı ve infertil erkekler arasında belirgin bir fark görülmemiştir. Kiessling ve ark. (58) spermlerinde bakteri ribozomal DNA' (rDNA) saptanan erkeklerde, normal sperm formlarının rDNA bulunmayan erkeklerle göre daha az olduğunu bildirmiştir, bu da semende çok sayıda bulunan bakterilerin kommensal olmadığını, erkek ürogenital sistemindeki enfeksiyonlarla ilişkili olduğunu düşündürmektedir.

SEMİNAL MİKROBİYOMU KARAKTERİZE EDEN NGS ÇALIŞMALARI

Şimdiye kadar gerçekleştirilen semenin NGS mikrobiyom çalışmaları ile tüm mikrobiyomun yalnızca bakteriyel kısmı analiz edilmiştir. Seminal virüs, mantar, protozoa ve arke toplulukları henüz karakterize edilmemiştir (28, 34 - 36). Yakın zamanda, özellikle infertilite ile ilgili semen örneklerindeki mikrobiyal özellikleri vurgulamak için NGS tabanlı çalışmalar yapılmıştır (**Tablo 1**) (28, 34 - 37, 40, 60, 61).

Bu bölümde semen mikrobiyomuna ilişkin güncel makalelerden bazıları özetlenmiş ve semende yer alan mikroorganizmalar ile semen kalitesi arasındaki ilişkinin incelenmesi için tartışılmakta olan konulara değinilmeye çalışılmıştır. Hou ve ark. (36) seminal sıvılarda kommensal bakterilerin bileşimini ve yapısını inceleyerek erkek infertilitesinin potansiyel nedenlerini araştırmayı amaçladıkları çalışmada, 58 infertil bireyin semen örneği (10: Astenospermi, 23: Oligoastenospermi, 25: Azospermi ve/veya Oligospermi) ve 19 donörün semen örneğini kul-

lanmışlardır. Semene özgü bakteri topluluklarının kompozisyonu ve yapısını karakterize etmek için kullandıkları yöntem, PCR ile güçlendirilmiş 16S rRNA geninin V1-V2 bölgelerinin dizilenmesine dayanmaktadır. Genel olarak semende en fazla sayıda bulunan bakteri cinslerini; *Ralstonia*, *Lactobacillus*, *Corynebacterium*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Prevotella*, *Finnegoldia*, *Anaerococcus*, *Peptoniphilus* olarak tanımlamışlardır. Çalışma sonucunda hem sperm donörlerinin hem de infertil vakaların çoğunda çok sayıda farklı bakteri türü olduğu, genel olarak, sperm donörleri ile infertil vakalar arasında anlamlı bir fark olmadığını gözlemlemişlerdir. Bununla birlikte, çoklu istatistiksel testlerle sperm kalitesi ile *Anaerococcus* varlığı arasında anlamlı bir negatif ilişki olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca sonuçlar, semende tanımlanan bakteriyel taksonların çoğunun, bazı kadınların vajinal topluluklarında, özellikle de bakteriyel vajinozisi olanlarda yer alabileceğini ve bunun da heteroseksüel seks partnerlerinin bakterileri paylaşabileceğini gösterdiğini bildirmişlerdir. Nihai sonuç olarak, insan semeninde çeşitli bakteri türlerinin mevcut olduğu, ancak sperm donörleri ve infertil vakalar arasında anlamlı farkların olmadığı, sperm kalitesi ile *Anaerococcus* varlığı arasında negatif bir korelasyon olduğu ve buna bağlı olarak *Anaerococcus* varlığının düşük sperm kalitesi için bir biyobelirteç olabileceğini bildirmişlerdir.

Weng ve ark. (34) bakteri toplulukları ve sperm kalitesi arasındaki ilişkiyi incelemek için, NGS teknolojisini ve semen kalite incelemesini birleştirerek yaptıkları çalışmada, Üremeye Yardımcı Tedavi Merkezi'ne gelen 96 erkeğin semen örneğini kullanmışlardır. Semen mikrobiyom topluluğunu 16S rRNA geninin V4 bölgesinin sekanslanmasıyla karakterize etmişlerdir. Yaptıkları analiz sonuçlarına göre 135 cins ve 569 tür tespit edilmiştir. Tüm örneklerde en fazla sayıda bulunan bakteri cinsleri; *Lactobacillus* (%19.9), *Pseudomonas* (%9.84), *Prevotella* (%8.51), *Gardnerella* (%4.21), *Rhodanobacter* (%2.74), *Streptococcus* (%2.74), *Finnegoldia* (%2.73) ve *Haemophilus* (%2.58)'dir. En fazla sayıda bulunan bakteri türleri; *Lactobacillus iners* (%14.09), *Prevotella sp.* (%3.06), *Gardnerella sp.* (%2.96), *Lactobacillus sp.* (%2.53), *Pseudomonas sp.* (%2.52) ve *Prevotella bivia* (%2.22) olarak saptanmıştır.

Tablo 1:Seminal mikrobiyomu karakterize eden NGS çalışmaları

Çalışmalar	Kohort ve Örnek Toplama	Tanımlanan Mikroorganizmalar	Amaç ve Bulgular
Hou ve ark. (36)	Çalışmaya 18-40 yaş aralığında Çinli erkekler dahil edilmiştir; son 2 ayda IYE/enflamasyon yok; Dahil edilen hastaların 19'u sağlıklı sperm donörü, 10'u astenosperti, 23'u oligoastenosperti, 25'i azospermi ve/veya şiddetli oligospermi'dir. 3-7 günlük cinsel perhizden sonra semen analizi yapılmıştır.	Saptanan Cinsler: <i>Ralstonia</i> <i>Lactobacillus</i> <i>Corynebacterium</i> <i>Streptococcus</i> <i>Staphylococcus</i> <i>Prevotella</i> <i>Finogoldia</i> <i>Anaerococcus</i> <i>Peptoniphilus</i>	Çalışmanın amacı: Erkek infertilitesinin potansiyel nedenlerini araştırmak. Bulgular: Sperm donörleri ve infertil erkekler arasında önemli mikrobiyota farkı belirlenmemiş olup, <i>Anaerococcus</i> varlığı, düşük sperm kalitesinin bir biyolojik belirteci olarak düşünülmüştür.
Weng ve ark. (34)	Çalışmaya 1 yılı aşkın süredir çocuğu olmayan sağlıklı Tayvanlı erkekler dahil edilmiştir. 96 hastadan (36 normal semen örneği ve anormal klinik değerlere sahip 33 semen örneği), 3-5 günlük cinsel perhizden sonra semen örnekleri alınmıştır.	Saptanan Cinsler: <i>Lactobacillus</i> <i>Pseudomonas</i> <i>Prevotella</i> <i>Gardnerella</i>	Çalışmanın amacı: Bakteri toplulukları ve semen kalitesi arasındaki ilişkileri araştırmak. Bulgular: <i>Lactobacillus</i> 'un artan baskınlığı ile semen kalitesi arasında ilişki bulunmuştur. <i>Lactobacillus</i> 'un, semen kalitesinin korunması için potansiyel bir probiyotik olabileceği, <i>Prevotella</i> ve <i>Pseudomonas</i> 'ın olumsuz etkilerine karşı koymada yardımcı olabileceği sonucuna varılmıştır.
Liu ve ark. (59)	Çalışmaya 18-65 yaş aralığında Kanadalı erkekler dahil edilmiştir. <i>Chlamydia trachomatis</i> , <i>Neisseria gonorrhoeae</i> veya <i>Treponema pallidum</i> enfeksiyon öyküsü olmayan; 27 HIV pozitif ve 22 HIV negatif erkeklerin semen analizi; 48 saatlik cinsel perhizden sonra yapılmıştır. Anti-kontaminasyon için semen örnekleri 100mg/ml streptomisin ve 1000U/ml penisilin içeren steril bir tüpe toplanmıştır.	Saptanan Cinsler: <i>Streptococcus</i> <i>Corynebacterium</i> <i>Staphylococcus</i>	Çalışmanın amacı: HIV enfeksiyonu ile semen mikrobiyomu arasındaki ilişkiyi belirlemektir. Bulgular: HIV enfeksiyonu, düşük semen mikrobiyom çeşitliliği ve zenginliği ile ilişkilidir. HIV pozitif kişilerde <i>Mycoplasma</i> baskın görülmüştür.
Mandar ve ark. (2015) (28)	Çalışmaya 24-43 yaş arası Estonyalı çiftler dahil edilmiştir. Kronik prostatiti olmayan; 3 ay anti-mikrobiyal tedavi; 2 hafta anti-inflamatuvar tedavi sonrası; 4-7 gün cinsel perhiz sonrasında semen örnekleri alınmıştır. Kadınlardan cinsel ilişki öncesi ve cinsel ilişkiden 8-12 saat sonra olmak üzere iki vajinal örnek alınmıştır.	Saptanan Cinsler: <i>Lactobacillus</i> <i>Gardnerella</i> <i>Flavobacterium</i> <i>Porphyromonas</i> <i>Prevotella</i> Saptanan Filumlar: Firmicutes Bacteroidetes Actinobacteria Proteobacteria	Çalışmanın amacı: seminal ve vajinal mikrobiyom karşılaştırmasını yapmaktır. Bulgular: Sperm toplulukları, toplam vajina bakteri konsantrasyonundan daha çeşitlidir. Seminal ve vajinal mikrobiyota birbiri ile bağlantılıdır. Kadınlarda <i>Gardnerella vaginalis</i> baskınlığı, prostatiti erkek genital yollarında iltihaplanma ile ilişkilidir.
Mandar ve ark. (2017) (60)	Çalışmaya 19-47 yaş arası Estonyalı erkekler dahil edilmiştir. 3 ay anti-mikrobiyal tedavi almayan; 1-10 günlük cinsel perhizden sonra semen analizi yapılmıştır.	Saptanan Cinsler: <i>Lactobacillus</i> <i>Gillisia</i> <i>Prevotella</i> <i>Corynebacterium</i> <i>Gardnerella</i> <i>Dechloromonas</i> Saptanan Filumlar: Firmicutes Bacteroidetes Proteobacteria Actinobacteria	Çalışmanın amacı: Prostatiti olan ve olmayan erkeklerde seminal profili oluşturmaktır. Bulgular: Seminal mikrobiyota tür çeşitliliği, prostatiti erkeklerde, sağlıklı erkeklerden daha fazladır.
Monteiro ve ark. (35)	Çalışmaya ART uygulanan Portekizli erkekler dahil edilmiştir. Hastaların, 89'u ART hastası, 29'u ise kontrol hastasıdır. 3 günü aşkın cinsel perhizden sonra semen analizi yapılmıştır.	Saptanan Cinsler: <i>Enterococcus</i> <i>Staphylococcus</i> <i>Peptoniphilus</i> <i>Corynebacterium</i> <i>Anaerococcus</i> <i>Propionibacterium</i> Saptanan Filumlar: Firmicutes Proteobacteria Actinobacteria Bacteroidetes	Çalışmanın amacı: Erkek infertil bireylerde mikrobiyotayı karakterize etmektir. Bulgular: Seminal hiperviskozite ve oligoastenoteratozoospermi saptanan hastalarda <i>Neisseria</i> , <i>Klebsiella</i> ve <i>Pseudomonas</i> patojenlerinde artış belirlenmiştir.
Chen ve ark. (40)	Çalışmaya 22-38 yaş arası Çinli erkekler dahil edilmiştir. Hastaların 5'i fertil, 6'sı obstrüktif azospermili ve 6'sı nonobstrüktif azospermili'dir. Hastalardan semen analizi yapılmıştır.	Saptanan Cinsler: <i>Pseudomonas</i> <i>Prevotella</i> <i>Proteus</i> <i>Lactobacillus</i> <i>Veillonella</i> <i>Rhodococcus</i> Saptanan Filumlar: Firmicutes Proteobacteria Bacteroidetes Actinobacteria	Çalışmanın amacı: Azospermili hastaların seminal mikrobiyom profilinin belirlenmesidir. Bulgular: Azospermisi olan hastalarda Bacteroidetes ve Firmicutes sayısı daha fazla iken, Proteobacteria ve Actinobacteria sayısı daha azdır. Azospermide patojenik türler ve azalan biyoçeşitlilik metabolik, enfeksiyöz ve immün hastalık riskini artırabileceği sonucuna varılmıştır.
Baud ve ark. (37)	Çalışmaya IVF merkezine başvuran İsviçreli erkekler dahil edilmiştir. 25'i normal ve 68'i en az bir anormal spermogram parametresine sahiptir. Hastalardan semen analizi yapılmıştır.	Saptanan Cinsler: <i>Corynebacterium</i> <i>Prevotella</i> <i>Lactobacillus</i> <i>Staphylococcus</i> <i>Planococcaceae</i> <i>Finogoldia</i> <i>Haemophilus</i> <i>Burkholderia</i> Saptanan Filumlar: Firmicutes Proteobacteria Bacteroidetes Actinobacteria	Çalışmanın amacı: Seminal sıvının bakteriyel bileşiminin ve bunun sperm parametreleri üzerindeki etkisini araştırmaktır. Bulgular: Normal sperm morfolojisine sahip numunelerde <i>Lactobacillus</i> sayısı oldukça fazla, sperm motilitesi kusurlu örneklerde ise <i>Prevotella</i> sayısında artma ve <i>Staphylococcus</i> sayısında ise azalma tespit edilmiştir.

ART: Yardımcı üreme teknolojisi
HIV: İnsan immün yetmezlik virüsü
IVF: İn-vitro fertilizasyon
IYE: İdrar yolu enfeksiyonu

Aynı çalışmada semen parametre değerleri normal olan 36 sağlıklı kişiden alınan örneklerde en fazla sayıda bulunan bakteri cinsleri;

Lactobacillus (24.7%), *Pseudomonas* (10.3%), *Gardnerella* (6.6%), *Prevotella* (5.4%), *Rhodanobacter* (2.9%), *Streptococcus* (2.7%)'dir. Normal örneklerde daha yüksek orana sahip türler; *Lactobacillus crispatus*, *Gardnerella vaginalis*, *Lactobacillus acidophilus* olarak saptanmıştır (34). Toplanan 96 semen örneği, semen kalitesi için yedi klinik kriter (semen hacmi, sperm konsantrasyonu, hareketlilik, Kruger'in katı morfolojisi, antisperm antikor (IgA), atipik lökositler) kullanılarak bakteri toplulukları açısından incelenmiştir. İnfertilite ile ilişkili, semen parametre değeri açısından en az iki anormal klinik değeri olan 33 semen örneğinde en fazla sayıda bulunan bakteri cinsleri; *Lactobacillus* (13.8%), *Prevotella* (11%), *Pseudomonas* (9.3%) *Haemophilus* (4.4%), *Finogoldia* (3.5%), *Rhodanobacter* (3.1%), *Corynebacterium* (2.8%) ve *Streptococcus* (2.8%) olarak saptanmıştır. *Prevotella*'nın oranı ise düşük kaliteli semen örneklerinde önemli ölçüde daha yüksek bulunmuş ve özellikle *Prevotella* bivia türü anormal klinik değeri olan örneklerde daha yüksek oranda gözlenmiştir. Nihai analiz sonuçlarına göre, seminal bakteri topluluk tiplerinin semen sağlığı ile yüksek oranda ilişkili olabileceği, *Lactobacillus*'un yalnızca semen kalitesinin korunması için potansiyel bir probiyotik olmakla kalmadığı, aynı zamanda *Prevotella* ve *Pseudomonas*'ın olumsuz etkisine karşı savunmada yardımcı olabileceği bildirilmiştir (34).

Liu ve ark. (60) antiretroviral tedavi sonrası HIV pozitif ve HIV negatif, 18-65 yaş aralığında, 49 erkek bireyden oluşan çalışma grubu üzerinde 16S rRNA gen temelli (V3-V6) ve PCR yöntemi ile bir çalışma yapmışlardır. Yapmış oldukları çalışmada semendeki HIV RNA viral yükünün serum viral yükü ile orta derecede bir korelasyon gösterdiği tespit edilmiştir. HIV durumundan bağımsız olarak semende yaygın olarak görülen bakterilerin; *Streptococcus*, *Corynebacterium* ve *Staphylococcus* olduğu bildirilmiştir. HIV pozitif bireylerde *Mycoplasma* baskın görülürken, HIV negatif bireylerde Mollicutes'ın daha baskın olduğu gözlenmiştir. HIV pozitif bireylerin IL-6, TNF-α gibi farklı proinflatuvar semen sitokinleri ile semendeki bakteri yükü ve viral yükü arasında korelasyon gösterdiği rapor edilmiştir. Özellikle, IL-1b'yi semen viral yükü ile ilişkilendirilmiştir. Semende bulunan bakteri yükü ile semen HIV viral yükünün doğ-

rudan bağlantılı olduğu rapor edilmiştir (60). Mändar ve ark. (61), NGS tekniklerini kullanarak seminal mikrobiyomun profilini oluşturmak amacıyla yaptıkları çalışmada prostatiti olan 21 kişi ve prostatiti olmayan 46 kişi olmak üzere toplam 67 erkeğin semen örneğini incelemişler ve seminal mikrobiyomları, 16S rRNA geninin V6 bölgesinin sekanslanmasıyla karakterize etmişlerdir. Semende en fazla sayıda bulunan filumlar; *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria* ve *Actinobacteria* dır En sık saptanan cinsler ise; *Lactobacillus*, *Gillisia*, *Prevotella*, *Corynebacterium* ve *Gardnerella*, en sık saptanan türler ise; *Lactobacillus iners*, *Lactobacillus crispatus*, *Gardnerella vaginalis* ve *Corynebacterium seminale* olarak bildirilmiştir. Proteobakterilerin prostatit hastalarında sağlıklı erkeklerle göre daha yüksek oranlarda olduğunu gözlemlemişler, ancak bu farkın anlamlı olmadığını bildirmişlerdir. Gruplar arasındaki dikkat çekici bir fark olarak; prostatit hastalarına göre sağlıklı erkeklerde daha fazla miktarda laktobasil olduğunu ve (sperm lipid peroksidasyonunu önleyerek sperm hareketliliğini ve canlılığını korur) özellikle *Lactobacillus iners*'i en fazla görünen tür olduğunu bildirmişlerdir. Sonuç olarak kronik prostatit hastalarının semenlerinin, sağlıklı erkeklerle göre daha az sayıda üreme sağlığını destekleyen laktobasil içerdiğini ve daha yüksek tür çeşitliliğine sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Mändar ve ark. (61), çiftlerde seminal ve vajinal mikrobiyota arasındaki farkları değerlendirmeyi amaçladıkları çalışmaya, 2009 - 2012 yılları arasında Tartu Üniversitesi Hastanesi'ne infertilite nedeniyle gelen 23 çifti dahil etmişlerdir. 4-7 günlük cinsel perhizden sonra kadın partnerin menstrüasyonu sırasında semen örnekleri toplanmıştır. Her kadın katılımcıdan, 3-5 gün sonra (menstrüel döngüsünün 6, 7 veya 8. günlerinde) iki vajinal örnek alınmıştır. Örnekler cinsel ilişkiden önceki akşam ve ertesi sabah cinsel ilişkiden 8-12 saat sonra alınmıştır. Semen ve vajinal sıvıda bulunan bakteriler (ilişki öncesi ve sonrası), 16S rRNA geninin (V6 bölgesi) temelinde mikrobiyal topluluğun profili çıkarılarak karakterize edilmiştir. Çalışma bulgularına göre seminal ve vajinal bakteri topluluklarında çok sayıda ortak filotipe sahiptir ve ortak filotipler arasında en çok saptanan cinsler; *Lactobacillus*, *Veillonella*, *Streptococcus*, *Porphyromonas* ve *Atopobium*'dır.

Seminal bakteri topluluklarının önemli ölçüde daha çeşitli olarak saptamışlar ve buna ek olarak semen numunelerinin toplam bakteri konsantrasyonlarının vajinal numunelerinden daha düşük olduğu bildirilmiştir. Vajinal mikrobiyota; *Lactobacillus*, *Streptococcus* ve *Gardnerella* cinslerinden daha fazla tür içerirken, semen numuneleri *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* (*Atopobium*, *Corynebacterium*, *Varibaculum*) ve β -*Proteobacteria*'dan daha fazla tür içermektedir. Bununla birlikte, ortalama Proteobakteri oranı, lökositospermik erkeklerde lökositospermisi olmayan erkeklerle kıyasla daha yüksek olarak saptanmıştır. Daha yüksek oranda *Corynebacterium*, *Flavobacterium* ve *Lactobacillus* cinsleri semen örneklerinde karakterize edilmiştir. Vajinal örneklerin çoğunda *Lactobacillus iners*, *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus jensenii* ve *Lactobacillus gasseri* baskın tür olarak bildirmişlerdir. Eşleri belirgin lökositospermisi olan kadınların yarısında (altıdan üçü) baskın mikroorganizma *G. vaginalis* iken, ancak eşinde anlamlı lökositospermisi olmayan 17 kadından sadece birinde *L. iners* ve *G. vaginalis*'in nispi fazlalığı gözlenmiştir (28).

Monteiro ve ark. (62) infertilite ile ilgili vaka ve kontrol gruplarında seminal plazmada bulunan bakteri topluluklarını karakterize etmeyi amaçladıkları çalışmada, NGS yöntemlerini kullanarak, 16S rRNA geninin V3-V6 bölgelerinin taranması aracılığıyla bakteri topluluklarının bağımsız bir araştırmasını gerçekleştirmişlerdir. 89 infertil vaka ve 29 kontrol olmak üzere toplam 118 kişiden alınan semen örneklerini; hiperviskozite, oligozoospermi, astenozoospermi ve teratozoospermi olmak üzere dört fenotipte incelemişlerdir. Bu fenotiplerin varlığına veya yokluğuna göre seminal mikrobiyota taramasını gerçekleştirmişlerdir. Çalışmada oluşturulan dört grupta görülen yaygın filumlar sırasıyla; *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes* olarak bildirilmiştir. *Cyanobacteria* ve *Fusobacteria* filumları yalnızca hiperviskozite ve oligoastenoteratozoospermi grupları ile ilişkilendirilmiştir. Hiperviskozite grubunda özellikle Gammaproteobacteria daha fazla görülmüştür. Dört grupta genel olarak 44 aile ve 55 cins tespit edilmiştir. Sonuç olarak, çalışmada hiperviskozite ve oligoastenoteratozoospermi gruplarında patojenik bakteri prevalansının daha yüksek olması,

erkek infertilitesinin bu karmaşık fenotiplerinde mikrobiyota değişimlerinin ve konak immün yanıtlarının güçlü bir etkisinin olduğu hipotezi desteklenmiştir. Ayrıca bakterilerin ve konaklarının gelecekteki transkriptomik analizinin, erkek infertilite fenotipleri ile patojen aracılı konakçı inflamatuvar yanıtı arasındaki ilişkiyi açıklamak için çok önemli olacağını ifade etmişlerdir (62).

Chen ve ark. (63) obstrüktif (OA) ve nonobstrüktif (NOA) azospermili infertil bireylerin seminal mikrobiyom profilini tanımlamayı amaçlamışlardır. Kültür temelli yapılan bir dizi araştırmada semende bulunan bakteri tür ve sayısının yeterli sonuç vermediğini bildirerek, NGS yöntemi ile (16S rRNA-V4 bölgesi), obstrüktif ve nonobstrüktif azospermili infertil bireyler ile sağlıklı fertil bireylerin semeninden genomik DNA'yı sekanslamışlardır. Çalışmada elde ettikleri sonuçlar, fertil (%98.14), OA (%98.26) ve NOA'lı bireylerde (%90.96); *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Bacteroidetes* ve *Actinobacteria* türlerinin çoğunluğu oluşturduğunu göstermişlerdir. OA ve NOA'ye sahip infertil bireylerin yer aldığı grupta *Bacteroidetes* ve *Firmicutes*'te bir artış olduğu gözlenmiştir. *Proteobacteria* ve *Actinobacteria* sayısının ise fertil bireylere göre azalmış olduğu tespit edilmiştir. Azospermisi olan infertil bireylerin semeni değerlendirildiğinde, semende bulunan patojenik türlerin ve biyoçeşitliliğin; metabolik, enfeksiyon hastalıkları ve immün sistem hastalıklarının oluşumunda risk artışına neden olabileceğinin göstergesi olarak değerlendirilebileceğini bildirmişlerdir. Çalışma sonunda elde ettikleri bulguların, azospermili bireylerin tanısı ve yeni tedavilerin geliştirilmesi sürecinde faydalı olabileceğini bildirmişlerdir (63).

Baud ve ark. (37) dişi üreme kanalına kıyasla erkek genital kanal mikrobiyotasının kapsamlı çalışılmadığını belirterek, normal ve anormal spermiyogram parametreleri olan erkeklerin semen mikrobiyal içeriğini ve bunun sperm parametreleri üzerindeki etkisini araştırdıkları çalışmada, spermiyogram parametresi normal olan 26 erkek ve en az bir anormal spermiyogram parametresi (toplam sperm sayısı, spermatozoa konsantrasyonu, progresif spermatozoa hareketliliği, toplam spermatozoa hareketliliği ve sperm morfolojisi) olan 68 erkeğin semen örneklerini çalışmaya dahil etmişlerdir. Mikrobiyota profili

oluşturma işlemin için 16S rRNA geninin V1-V2 bölgesini hedefleyen özel primerler kullanılarak çoğaltmışlardır. Çalışmada, semen numunelerinde en çok bulunan bakteri topluluklarını; *Actinobacteria* (*Corynebacterium*), *Bacteroidetes* (*Prevotella*), *Firmicutes* (*Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Planococaceae*, *Finegoldia*) ve *Proteobacteria* (*Haemophilus*, *Burkholderia*) olarak gözlemlemişlerdir. Tüm numuneler genel olarak 3 mikrobiyota profilinde kümelenmiştir. Bunlar, modül 1 zorunlu anaerobik cinslerden (*Prevotella*, *Finegoldia*, *Campylobacter*, *Actinomyces*, *Fusobacterium*, *Dialister*, *Peptoniphilus*) oluşurken, modül 2 fakültatif anaerobları (*Lactobacillus*, *Gardnerella*, *Ureaplasma*), modül 3 hem zorunlu hem de fakültatif anaerobları (*Staphylococcus*, *Corynebacterium*, *Propionibacterium*, *Planocaccaceae* ve *Delftia*) içermektedir. Anormal sperm hareketliliği olan semen örneklerinde *Prevotella* cinsi bakteriler önemli ölçüde çok sayıda saptanırken, kontrol grubunda *Staphylococcus* cinsi bakteriler daha fazla sayıda saptanmıştır. Ayrıca normal sperm morfolojisine sahip semen örneklerinde *Lactobacillus* cinsi oranlarında artış saptamışlardır (37).

Seminal mikrobiyota hakkında bilimiz halen yeterli değildir ve ele alınması gereken sayısız soru bulunmaktadır. Erkek ürogenital sisteminin farklı anatomik bölgelerinden mikroorganizmaların izole edilmesi diğer alanlardan kontaminasyon olmadan zor olduğundan, farklı ürogenital bölgelerin benzersiz bir mikrobiyomu barındırıp barındırmadığı doğrulanmayı beklemektedir. Mevcut çalışmalarda bildirilen bakteriyospermi prevalansında geniş bir aralık vardır ve çalışmalar arasında mikrobiyomun bileşiminde önemli farklılıklar gözlenmiştir. Semen steril değildir ve mikrobiyomun hem fertil hem de infertil erkeklerde zengin ve çeşitli bir topluluk olduğu belirtilmektedir. Bu durum heterojen grupları ve yöntemleri içererek karşılaştırmayı zorlaştırmakta ve sağlıklı erkeklerin seminal mikrobiyomunun haritasını çıkarmak için daha fazla numune ve sıkı kontaminasyon kontrolü ile daha fazla araştırma yapılması gerektiği anlamına gelmektedir. Bu derlemede, bakteri toplulukları ve semen kalitesi arasındaki ilişkileri araştırmak için NGS teknolojisini kullanan güncel makalelere odaklanarak bakteri topluluğu ile semen kalitesi arasındaki iliş-

kinin kapsamlı analizi amaçlanmıştır. Ayrıca bu derleme, erkek infertilite etiyolojisine yönelik mevcut anlayışa önemli katkıda bulunmaktadır. Bu konuda yapılacak çalışmalar, seminal mikrobiyotanın genetik, immün yanıt ve diğer çevresel değişkenlerden nasıl etkilenebileceğini ve mikrobiyotanın sağlık ve hastalıktaki rolünü daha iyi anlayabilmemize olanak sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

1. Zegers-Hochschild F, Adamson GD, Dyer S, et al. The International Glossary on Infertility and Fertility Care. *Hum Reprod.* 2017;32(9):1786-801.
2. Ombelet W, Cooke I, Dyer S, Serour G, Devroey P. Infertility and the provision of infertility medical services in developing countries. *Hum Reprod Update.* 2008;14(6):605-21.
3. Cariati F, D'Argenio V, and Tomaiuolo R. The evolving role of genetic tests in reproductive medicine. *Journal of translational medicine.* 2019;17(1):1-33.
4. WHO, WHO, Manual for the Standardised Investigation and Diagnosis of the Infertile Couple. 2000.
5. Keck C, Gerber-Schäfer C, Clad A, Wilhelm C, Breckwoldt M. Seminal tract infections: impact on male fertility and treatment options. *Human Reproduction Update.* 1998;4(6):891-903.
6. Villegas J, Schulz M, Soto L, Sanchez R. Bacteria induce expression of apoptosis in human spermatozoa. *Apoptosis.* 2005;10(1):105-10.
7. Kaur S. and V. Prabha. Receptor mediated amelioration of the detrimental effects of sperm agglutinating factor on sperm parameters. *Andrology.* 2013;1(4):624-31.
8. Núñez-Calonge R, Caballero P, Redondo C, Baquero F, Martínez-Ferrer M, Meseguer MA. *Ureaplasma urealyticum* reduces motility and induces membrane alterations in human spermatozoa. *Hum Reprod.* 1998;13(10):2756-61.
9. Boguen R, Treulen F, Uribe P, Villegas JV. Ability of *Escherichia coli* to produce hemolysis leads to a greater pathogenic effect on human sperm. *Fertil Steril.* 2015;103(5):1155-61.
10. Ma XP. and XQ. Gao. The effect of *Ureaplasma urealyticum* on the level of P34H expression, the activity of hyaluronidase, and DNA fragmentation in human spermatozoa. *Am J Reprod Immunol.* 2017;77(1):e12600.
11. Jungwirth A, Diemer T, Kopa Z, Krausz C, Minhas S, Tournaye H. Male Infertility, in European Association of Urology. <http://uroweb.org/guidelines/compilation-of-all-guidelines/>. 20.04.2022.
12. Henkel R. R. Leukocytes and oxidative stress: dilemma for sperm function and male fertility. *Asian Journal of Andrology.* 2011;13(1): 43.
13. Ochsendorf F. Infections in the male genital tract and reactive oxygen species. *Human Reproduction Update.* 1999;5(5):399-420.
14. Simon L, Castillo J, Oliva R, Lewis SE. Relationships between human sperm protamines, DNA damage and assisted reproduction outcomes. *Reprod Biomed Online.* 2011;23(6):724-34.
15. Simon L, Murphy K, Shamsi MB, et al. Paternal influence of sperm DNA integrity on early embryonic development. *Hum Reprod.* 2014;29(11):2402-12.
16. Lewis SE and RJ Aitken. DNA damage to spermatozoa has impacts on fertilization and pregnancy. *Cell Tissue Res.* 2005;322(1):33-41.
17. Koedooder R, Mackens S, Budding A, et al. Identification and evaluation of the microbiome in the female and male reproductive tracts. *Hum Reprod Update.* 2019;25(3):298-325.
18. Jordan JA and MB Durso, Real-time polymerase chain reaction for detecting bacterial DNA directly from blood of neonates being evaluated for sepsis. *J Mol Diagn.* 2005;7(5):575-81.
19. Clarridge JE. 3rd, Impact of 16S rRNA gene sequence analysis for identification of bacteria on clinical microbiology and infectious diseases. *Clin Microbiol Rev.* 2004;17(4):840-62.
20. Woese CR and GE Fox, Phylogenetic structure of the prokaryotic domain: the primary kingdoms. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1977;74(11):5088-90.
21. Woo PC, Lau SK, Teng JL, Tse H, Yuen KY. Then and now: use of 16S rDNA gene sequencing for bacterial identification and discovery of novel bacteria in clinical microbiology laboratories. *Clin Microbiol Infect.* 2008;14(10):908-34.
22. Consortium THMP. A framework for human microbiome research. *Nature.* 2012;486(7402):215-21.
23. Witkin SS. The vaginal microbiome, vaginal anti-microbial defence mechanisms and the clinical challenge of reducing infection-related preterm birth. *Bjog.* 2015;122(2):213-8.
24. García-Velasco JA, Menabrito M, and Catalán IB. What fertility specialists should know about the vaginal microbiome: a review. *Reprod Biomed Online.* 2017;35(1):103-12.
25. Champer M, Wong AM, Champer J, et al. The role of the vaginal microbiome in gynaecological cancer. *Bjog.* 2018;125(3):309-15.
26. Freitas AC, Chaban B, Bocking A, Rocco M, Yang S, Hill JE, Money DM. The vaginal microbiome of pregnant women is less rich and diverse, with lower prevalence of Mollicutes, compared to non-pregnant women. *Sci Rep.* 2017;7(1):9212.

27. Stout MJ, Zhou Y, Wylie KM, Tarr PI, Macones GA, Tuli MG. Early pregnancy vaginal microbiome trends and preterm birth. *Am J Obstet Gynecol*. 2017;217(3):356-57.
28. Mändar R, Punab M, Borovkova N, et al. Complementary seminovaginal microbiome in couples. *Res Microbiol*. 2015;166(5):440-7.
29. Castillo J, Jodar M, and Oliva R, The contribution of human sperm proteins to the development and epigenome of the preimplantation embryo. *Human Reproduction Update*. 2018;24(5):535-55.
30. Altmäe S, Franasiak JM, and Mändar R. The seminal microbiome in health and disease. *Nature Reviews Urology*. 2019;16(12):703-21.
31. Jodar M, Sendler E, and Krawetz SA. The protein and transcript profiles of human semen. *Cell and tissue research*. 2016;363(1):85-96.
32. Javurek AB, Spollen WG, Ali AMM, et al. Discovery of a novel seminal fluid microbiome and influence of estrogen receptor alpha genetic status. *Scientific reports*. 2016;6(1):1-14.
33. Mändar R. Microbiota of male genital tract: impact on the health of man and his partner. *Pharmacological research*. 2013;69(1):32-41.
34. Weng SL, Chiu CM, Lin FM, et al. Bacterial communities in semen from men of infertile couples: metagenomic sequencing reveals relationships of seminal microbiota to semen quality. *PloS one*. 2014;9(10):e110152.
35. Monteiro C, Marques PI, Cavadas B, et al. Characterization of microbiota in male infertility cases uncovers differences in seminal hyperviscosity and oligoasthenoatozoospermia possibly correlated with increased prevalence of infectious bacteria. *American Journal of Reproductive Immunology*. 2018;79(6):12838.
36. Hou D, Zhou X, Zhong X, et al. Microbiota of the seminal fluid from healthy and infertile men. *Fertility and sterility*. 2013;100(5):1261-9.
37. Baud D, Pattaroni C, Vulliemoz N, Castella V, Marsland BJ, Stojanov M. Sperm microbiota and its impact on semen parameters. *Frontiers in Microbiology*. 2019;10:234.
38. Alfano M, Ferrarese R, Locatelli I, et al. Testicular microbiome in azoospermic men-first evidence of the impact of an altered microenvironment. *Human Reproduction*. 2018; 33(7):1212-7.
39. Cavarretta I, Ferrarese R, Cazzaniga W, et al. The microbiome of the prostate tumor microenvironment. *European urology*. 2017;72(4):625-31.
40. Chen H, Luo T, Chen T, Wang G. Seminal bacterial composition in patients with obstructive and non-obstructive azoospermia. *Experimental and therapeutic medicine*. 2018;15(3):2884-90.
41. Baker JM, Chase DM, and Herbst-Kralovetz MM. Uterine microbiota: residents, tourists, or invaders? *Frontiers in Immunology*. 2018;9:208.
42. Jeon SJ, Cunha F, Vieira-Neto A. Blood as a route of transmission of uterine pathogens from the gut to the uterus in cows. *Microbiome*. 2017;5(1):1-13.
43. Türk S, Mazzoli S, Štšepetova J, Kuznetsova J, Mändar R. Coryneform bacteria in human semen: inter-assay variability in species composition detection and biofilm production ability. *Microbial ecology in health and Disease*. 2014;25(1):22701.
44. Magri V, Boltri M, Cai T, et al. Multidisciplinary approach to prostatitis. *Archivio Italiano di Urologia e Andrologia*. 2018;90(4):227-48.
45. Cai T, Tessarolo F, Caola I, et al. Prostate calcifications: A case series supporting the microbial biofilm theory. *Investigative and Clinical Urology*. 2018;59(3):187-93.
46. Bartoletti R, Cai T, Nesi G, et al. The impact of biofilm-producing bacteria on chronic bacterial prostatitis treatment: results from a longitudinal cohort study. *World journal of urology*. 2014;32(3):737-42.
47. Willeén M, Hoist E, Myhre EB, Olsson AM. The bacterial flora of the genitourinary tract in healthy fertile men. *Scandinavian journal of urology and nephrology*. 1996;30(5): 387-93.
48. Ivanov IB, Kuzmin MD, and Gritsenko VA, Microflora of the seminal fluid of healthy men and men suffering from chronic prostatitis syndrome. *International journal of andrology*. 2009;32(5):462-7.
49. Kermes K, Punab M, Lõivukene K, Mändar R. Anaerobic seminal fluid micro-flora in chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome patients. *Anaerobe*. 2003;9(3):117-23.
50. Punab M, Lõivukene K, Kermes K, Mändar R. The limit of leucocytospermia from the microbiological viewpoint. *Andrologia*. 2003;35(5):271-8.
51. Korrovits P, Punab M, Türk S, Mändar R. Seminal microflora in asymptomatic inflammatory (NIH IV category) prostatitis. *European urology*. 2006;50(6):1338-46.
52. Türk S, Korrovits P, Punab M, Mändar R. Coryneform bacteria in semen of chronic prostatitis patients. *international journal of andrology*. 2007;30(2):123-8.
53. Petrova MI, Lievens E, Malik S, Imholz N, Lebeer S. Lactobacillus species as biomarkers and agents that can promote various aspects of vaginal health. *Frontiers in Physiology*. 2015;6: 81.
54. Barbonetti A, Cinque B, Vassallo MRC, et al. Effect of vaginal probiotic lactobacilli on in vitro-induced sperm lipid peroxidation and its impact on sperm motility and viability. *Fertility and Sterility*. 2011;95(8):2485-8.

- 55.** Rehewy M, Hafez E, Thomas A, Brown W. Aerobic and anaerobic bacterial flora in semen from fertile and infertile groups of men. *Archives of Andrology*. 1979;2(3):263-8.
- 56.** Balmelli T, Stamm J, Dolina-Giudici M, et al. *Bacteroides ureolyticus* in men consulting for infertility. *Andrologia*. 1994;26(1):35-8.
- 57.** Vandamme P, Debruyne L, De Brandt E, Falsen E. Reclassification of *Bacteroides ureolyticus* as *Campylobacter ureolyticus* comb. nov., and emended description of the genus *Campylobacter*. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2010;60(9):2016-22.
- 58.** Kiessling AA, Desmarais BM, Yin HZ, Loverde J, Eyre RC. Detection and identification of bacterial DNA in semen. *Fertility and Sterility*. 2008;90(5):1744-56.
- 59.** Jarvi K, Lacroix JM, Jain A, Dumitru I, Heritz D, Mittelman MW. Polymerase chain reaction-based detection of bacteria in semen. *Fertility and sterility*. 1996;66(3):463-7.
- 60.** Liu CM, Osborne BJ, Hungate BA. The semen microbiome and its relationship with local immunology and viral load in HIV infection. *PLoS pathogens*. 2014;10(7):e1004262.
- 61.** Măndar R, Punab M, Korrovits P, et al. Seminal microbiome in men with and without prostatitis. *International Journal of Urology*. 2017;24(3):211-6.
- 62.** Monteiro C, Marques PI, Cavadas B, et al. Characterization of microbiota in male infertility cases uncovers differences in seminal hyperviscosity and oligoasthenoatozoospermia possibly correlated with increased prevalence of infectious bacteria. *Am J Reprod Immunol*. 2018;79(6):12838.
- 63.** Chen H, Luo T, Chen T, Wang G. Seminal bacterial composition in patients with obstructive and non-obstructive azoospermia. *Exp Ther Med*. 2018;15(3):2884-90.