

T.C.  
İSTANBUL YENİ YÜZYIL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
KLİNİK EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI



SEMİNAL STAFİLOKOK ENFEKSİYONLARININ  
SPERM MATURASYONU VE SPERM DNA  
FRAGMENTASYONU ÜZERİNE ETKİSİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ÖZGE YILDIZ

TEZ DANIŞMANI

Dr. Öğr. Üyesi SÜHEYLA AYKAÇ YAZICIOĞLU

İSTANBUL, 2024

T.C.  
İSTANBUL YENİ YÜZYIL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
KLİNİK EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI



SEMİNAL STAFİLOKOK ENFEKSİYONLARININ  
SPERM MATURASYONU VE SPERM DNA  
FRAGMENTASYONU ÜZERİNE ETKİSİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ÖZGE YILDIZ

TEZ DANIŞMANI

Dr. Öğr. Üyesi SÜHEYLA AYKAÇ YAZICIOĞLU

İSTANBUL, 2024

**T.C.**  
**İSTANBUL YENİ YÜZYIL ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ**  
**TEZ ONAY BELGESİ**

Klinik Embriyoloji Tezli Yüksek Lisans Programı **20111102015** numaralı öğrencisi Özge YILDIZ'ın "SEMİNAL STAFİLOKOK ENFEKSİYONLARININ SPERM MATURASYONU VE SPERM DNA FRAGMENTASYONU ÜZERİNE ETKİSİ" adlı tez çalışması, Enstitümüz Yönetim Kurulunun 12.07.2024 tarih ve 2024/14 sayılı kararıyla oluşturulan jüri tarafından oy birliğiyle Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

**Tez Savunma Tarihi:** 02.08.2024

Dr. Öğr. Üyesi Süheyla AYKAÇ YAZICIOĞLU  
**Tez Danışmanı**

Prof. Dr. Tülay İREZ  
**Jüri Üyesi**

Dr. Öğr. Üyesi Nilgün SAHİP  
**Jüri Üyesi**

## ETİK BEYAN

İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tezde;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmasında yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu, bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

02 / 08 / 2024

Özge YILDIZ

## ÖNSÖZ

Deneylem sırasında bizlere yol gösteren ve bilgi birikimiyle bizlere her zaman destek olan, tezimin her aşamasında sağladığı katkılardan dolayı saygıdeğer hocam Sayın Prof. Dr. Tülay İrez'e, çalışmamda bana yön gösteren, destek ve emeklerini esirgemeyen, beni yüreklendiren, öğrencisi olmaktan her zaman gurur duyacağım tez danışmanım Sayın Dr. Süheyla Aykaç Yazıcıoğlu'na teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca deneylem süresince benden desteğini ve emeğini esirgemeyen değerli hocam Sayın Dr. Deniz Taşkın'a teşekkür ederim.

Bu bilimsel çalışmada bizlere materyal temini sağlayarak destek olan Memorial Şişli Tüp Bebek Merkezi ve çalışanlarına, Prof. Dr. Semra Kahraman'a ve Biyolog Hakan Kadir Yelke'ye katkılarında dolayı teşekkür ederim.

Yüksek lisans öğrenimim boyunca yanımda olan, bu yolda karşılaştığım her zorlukta bana destek veren sevgili arkadaşım Biyolog Mehri Fard Estalkhi ve her zaman bana destek olan Biyolog Şeydanur Doğan'a, eğitimim konusunda beni her zaman teşvik eden değerli arkadaşım Gökhan Taygun Üstünel'e teşekkürlerimi borç bilirim.

Hayatım boyunca hiçbir konuda benden desteğini, emeğini ve sevgisini esirgemeyen, bana her zaman güvenen, haklarını asla ödeyemeyeceğim anneme, babama, kardeşime ve dedeme sonsuz teşekkür ederim.

İSTANBUL, 2024

Özge YILDIZ

# İÇİNDEKİLER

ETİK BEYAN.....	İ
ÖNSÖZ.....	İİ
İÇİNDEKİLER .....	İİİ
TABLolar LİSTESİ.....	VI
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	Vİİ
KISALTMALAR LİSTESİ.....	Vİİİ
ÖZET.....	XI
ABSTRACT.....	Xİİ
1. GİRİŞ .....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Erkek İnfertilitesi.....	3
2.2. Fertil Erkeklerde Seminal Mikrobiyom .....	4
2.3. İnfertil Erkeklerde Seminal Mikrobiyom.....	6
2.4. Erkeklerde Reprodüktif Sistem Enfeksiyonları .....	7
2.5. Cinsel Yolla Bulaşan Hastalıklar (CYBH).....	8
2.6. Cinsel Yolla Bulaşan Hastalık Patojenleri ve Erkek Fertilitesi Üzerindeki Etkileri.....	9
2.6.1. Chlamydia trachomatis (CT) .....	9
2.6.2. Neisseria gonorrhoeae .....	10
2.6.3. Mycoplasma ve türleri .....	11
2.6.4 Stafilokok ve türleri .....	13
2.6.5 Stafilokokların sperm üzerindeki etkisi .....	16
2.6.6. Stafilokokların sperm patogenez mekanizması.....	17
2.6.7. Stafilokokların tayini .....	20
2.6.7.1. Stafilokokların identifikasyonunda kullanılan başlıca deneyler .	20

2.6.7.2. Koagülaz negatif stafilokokların tayini.....	22
2.6.8. Prostatit.....	23
2.6.9. Epididimit.....	24
2.6.10. Orşit.....	25
2.6.11. Üretrit.....	25
2.7. Spermatogenez.....	26
2.7.1. Spermatositogenez.....	27
2.7.2. Spermiyogenez.....	27
2.8. Epididimal Maturasyon.....	29
2.9. Sperm DNA Yapısı.....	30
2.10. Sperm DNA Fragmantasyonu.....	31
2.11. Sperm DNA Fragmantasyonunun Patogenezi.....	32
2.11.1. Apoptoz.....	33
2.11.2. Kromatin paketleme anomalileri.....	33
2.11.3. Reaktif oksijen türleri.....	34
2.12. Stafilokokların Sperm DNA Fragmantasyonuna Etkisi.....	34
2.13. Sperm DNA Fragmantasyon Tespit Yöntemleri.....	38
2.13.1. Akridin oranj (AO) testi.....	38
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	39
3.1. Çalışmaya Dahil Edilen Gruplar ve Özellikleri.....	39
3.2. Gereç Listesi.....	39
3.2.1. Mikrobiyoloji deneyleri için kullanılan malzemeler.....	39
3.2.2. Sperm maturasyonu deneyi için kullanılan malzemeler.....	41
3.2.3. Sperm DNA fragmantasyonu deneyi için kullanılan malzemeler.....	41
3.2.4. Sperm DNA fragmantasyonu deney solüsyonları.....	42
3.2.4.1. Asidik Tyrodes solüsyonunun hazırlanması.....	42
3.2.4.2. Stok Akridin Orange (AO) çözeltisi, AO boya solüsyonu ve Carnoy fiksatifinin hazırlanması.....	42

3.2.4.3. Stok Etidyum Bromür çözeltilisinin ve Etidyum Bromür boyasının hazırlanması .....	43
3.3. Çalışmada Kullanılan Yöntemler .....	43
3.3.1. Mikrobiyolojik tanı .....	43
3.3.2. May Grunwald ve Giemsa boyaması.....	47
3.3.3. Sperm maturasyonu deneyi.....	49
3.3.4. Sperm DNA fragmantasyonu deneyi.....	51
4. BULGULAR .....	54
5. TARTIŞMA VE SONUÇ .....	61
6. KAYNAKLAR .....	66

## TABLolar LİSTESİ

<b>Tablo 2.6.6.2:</b> SIF molekülünün Mg <sup>++</sup> ATPase aktivitesi üzerindeki etkisi.....	19
<b>Tablo 2.6.7.2.1:</b> Koagülaz negatif stafilokokların ayırt edici özellikleri .....	22
<b>Tablo 2.6.8.1:</b> NIH'a göre prostatit sınıflandırması .....	23
<b>Tablo 2.6.11.1:</b> Semen parametreleri referans değerleri (WHO, 2010).....	26
<b>Tablo 4.1:</b> Perhiz süresi, likefaksiyon ve lökosit sayısının gruplarda dağılımı ve karşılaştırma. ....	54
<b>Tablo 4.2:</b> Perhiz süresi, likefaksiyon ve lökosit sayısının üç grupta dağılımı.....	55
<b>Tablo 4.3:</b> Shapiro Wilk analizi sonuçları (değişkenlerin normallik analizi). ....	56
<b>Tablo 4.4:</b> Spermiyogram, sperm maturasyonu ve sperm DNA fragmentasyonu değerlerine ilişkin ortalamalar ve karşılaştırmalar. ....	57
<b>Tablo 4.5:</b> Spermiyogram, sperm maturasyonu ve sperm DNA fragmentasyonu değerlerinin üç gruba ilişkin ortalamaları ve karşılaştırmalar.....	58
<b>Tablo 4.6:</b> Değişkenler arasında korelasyon (Spearman's rho analizi). ....	59

## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.2.1: Erkeklerde ürogenital sistemde bulunan bakteri toplulukları .....	5
Şekil 2.6.3.1: M.genitalium elektron mikroskop görüntüsü (bar: 500nm) .....	11
Şekil 2.6.6.1: SIF ile inkübe edilmiş FITC etiketli insan spermatozoasının floresan mikroskobu (1000x) görüntüsü .....	18
Şekil 2.7.1.1: Erkek germ hücrelerinin oluşumu. ....	27
Şekil 2.7.2.1: Spermiyogenez .....	28
Şekil 2.10.1: Sperm DNA fragmantasyonunun başlıca nedensel faktörleri .....	32
Şekil 2.12.1: 37°C'de in vitro 2 ve 4 saatlik bakteri/sperm ortak inkübasyonu sırasında sperm motilitesindeki değişiklikler.....	35
Şekil 2.12.2: 37°C'de in vitro 4 saatlik bakteri/sperm ortak inkübasyonu sırasında küresel reaktif oksijen türlerinin üretimindeki değişiklikler.....	36
Şekil 2.12.3: 37°C'de in vitro 4 saatlik bakteri/sperm ortak inkübasyonu sırasında sperm DNA parçalanmasında meydana gelen değişiklikler. ....	37
Şekil 3.3.1.1: Lökosit görülen preparat örneği .....	44
Şekil 3.3.1.2: Lökosit görülmeyen preparat örneği .....	44
Şekil 3.3.1.3: Katalaz pozitif (+) örnek .....	45
Şekil 3.3.1.4: Basitrasin antibiyotiğine duyarlı örnek (mikrokok) .....	46
Şekil 3.3.1.5: Bacitrasin antibiyotiğine dirençli örnek .....	46
Şekil 3.3.1.6: Koagülaz pozitif ve koagülaz negatif örnek.....	47
Şekil 3.3.2.1: Kontrol grubunda sperm morfoloji değerlendirmesi.....	48
Şekil 3.3.2.2: KNS enfeksiyonlu grupta sperm morfoloji değerlendirmesi .....	48
Şekil 3.3.2.3: S.aureus enfeksiyonlu grupta sperm morfoloji değerlendirmesi.....	49
Şekil 3.3.3.1: Kontrol grubunda sperm maturasyonu .....	50
Şekil 3.3.3.2: KNS enfeksiyonlu hastada sperm maturasyonu .....	50
Şekil 3.3.3.3: S.aureus enfeksiyonlu hastada sperm maturasyonu .....	51
Şekil 3.3.4.1: Kontrol grubu sperm DNA fragmantasyonu .....	52
Şekil 3.3.4.2: KNS enfeksiyonlu grupta sperm DNA fragmantasyonu.....	53
Şekil 3.3.4.3: S.aureus enfeksiyonlu örnekte sperm DNA fragmantasyonu .....	53

## KISALTMALAR LİSTESİ

°C: Santigrat Derece

µl: Mikrolitre

AO: Akridin Oranj

AOT: Akridin Oranj Testi

ASA: Antisperm Antikorları

ATP: Adenozin Trifosfat

AU-PAGE: Asetik Asit-Üre Poliakrilamid Jel Elektroforezi

cfu: Koloni oluşturan birim (Coloni-Forming Units)

CMA3: Sperm Kromatin Maturasyon Testi

CYBH: Cinsel Yolla Bulaşan Hastalıklar

DNA: Deosiribonükleik Asit

dUTP: Deoksiüridin Trifosfat

EAU: Avrupa Üroloji Derneği

FITC: Fluorescein İsothiocynate

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: Hidrojen Peroksit

HIV: İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü

HSV: Herpes Simpleks Virüsü

ICSI: İntrasitoplazmik Sperm Enjeksiyonu

IgA: İmmünglobulin A

IgG: İmmünglobulin G

IVF: İn Vitro Fertilizasyon

kDa: Kilodalton

Kj: Kilojul

KNS: Koagülaz Negatif Stafilokok

LCR: Ligaz Zincir Reaksiyonu

MALDI-TOF: Kütle spektrometrisi tekniği (Matriks-Assisted Laser Desorption  
İonization- Time of Flight)

Mg: Magnezyum

mg: Miligram

MHC: Ana Histouyum Uyumluluk Kompleksi (Major Histocompatibility Kompleks)

ml: Mililitre

MOL: Mol

Mw: Moleküler Ağırlık

NIH: Ulusal Sağlık Enstitüleri

PCR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

ROS: Reaktif Oksijen Türleri

RPM: Dakikadaki Devir Sayısı

SCD: Sperm Kromatin Dispersiyonu

SCSA: Sperm Kromatin Yapı Testi

SDF: Sperm DNA Fragmantasyonu

SEM: Taramalı Elektron Mikroskobu

SIF: Sperm İmmünobilizasyon Faktör

SPSS: Sosyal Bilimler İçin İstatistiksel Paket

TdT: Terminal Deoksinükleotidil Transferaz

TEM: Transmisyon Elektron Mikroskobu

TOPO II: Topoizomeraz II

TP: Geçiş Proteini

TUNEL: Terminal Deoksinükleotidil Transferaz-Aracılı Deoksiüridin (TdT)

Trifosfat (dUTP) Nick Son Etiketleme Testi

WHO: Dünya Sağlık Örgütü



## ÖZET

### SEMİNAL STAFİLOKOK ENFEKSİYONLARININ SPERM MATURASYONU VE SPERM DNA FRAGMENTASYONU ÜZERİNE ETKİSİ

Stafilokoklar, insanlarda cilt, yumuşak doku, ve diğer enfeksiyonlara neden olan bir bakteridir. Özellikle *Staphylococcus aureus* türü, birçok klinik enfeksiyona yol açabilir. Bu bakteri, çoğunlukla cilt, burun pasajları ve diğer anatomik bölgelerde bulunur. Erkek ve dişi üreme sisteminde de sıkça görülür ve infertiliteyle ilişkilendirilebilir. Stafilocok enfeksiyonları, sperm aktivitesini ve üreme organlarının işlevini olumsuz etkileyebilir, hatta sperm kalitesini düşürebilir. Bu nedenle, stafilocok enfeksiyonu ile erkek infertilitesi arasında bir ilişki olabilir. Önceki çalışmalarda, infertilite sorunu olan erkeklerde *S.aureus* enfeksiyon oranının %20.6 olduğu rapor edilmiştir. Stafilocok enfeksiyonlarının sperm maturasyonu ve sperm DNA fragmentasyonunu araştırmayı amaçlayan bu çalışmada infertilite kliniğine başvuran 44 erkek bireyin semen örnekleğiyle çalışılmış ve 22 bireyde stafilocok enfeksiyonu olduğu tespit edilmiştir. Kontrol grubu olarak kabul edilen normospermik bireylerde normal form, enfeksiyonlu bireylerde ise sperm DNA fragmentasyonu anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Stafilocok enfeksiyonunun sperm maturasyonuna anlamlı bir etkisi görülmemiştir.

**Anahtar Kelimeler:** İnfertilite, Stafilocok, Fragmentasyon, Maturasyon

Özge YILDIZ, 2024

## ABSTRACT

### THE EFFECT OF SEMINAL STAPHYLOCOCCAL INFECTIONS ON SPERM MATURATION AND SPERM DNA FRAGMENTATION

Staphylococcus is a bacterium that causes skin, soft tissue, and other human infections. Notably, the *Staphylococcus aureus* species can lead to various clinical infections. This bacterium is commonly found on the skin, nasal passages, and other anatomical regions. It is also frequently present in the male and female reproductive systems and can be associated with infertility. Staphylococcal infections can adversely affect sperm activity and the function of reproductive organs, potentially reducing sperm quality. Therefore, there may be a relationship between staphylococcal infection and male infertility. Previous studies have reported a 20.6% infection rate of *S. aureus* in men with infertility issues. In a study investigating sperm maturation and DNA fragmentation due to staphylococcal infections, semen samples from 44 male individuals seeking infertility treatment were analyzed, revealing Staphylococcus infection in 22 individuals. In comparison to normospermic individuals considered as the control group, those with infections showed significantly higher sperm DNA fragmentation rates. In contrast, no significant impact on sperm maturation due to Staphylococcus infection was observed.

**Keywords:** Infertility, Staphylococcus, Fragmentation, Maturation

Özge YILDIZ, 2024

# 1. GİRİŞ

*Staphylococcus sp.* sadece kommensal bir bakteri değil, aynı zamanda cilt ve yumuşak doku enfeksiyonu, plöropulmoner ve osteoartiküler enfeksiyon ve endokardit gibi çeşitli klinik enfeksiyonlara ve ayrıca hayatı tehdit eden sistemik enfeksiyonlara neden olan büyük bir insan patojenidir. Üreme organlarındaki bakteriyel enfeksiyon, hem erkek hem de kadın hastalarda infertilitenin en yaygın nedenlerinden biridir. Ayrıca cinsel yolla bulaşan enfeksiyonlar ve olumsuz gebelik sonuçları ile ilişkilidir. Klamidya, mikoplazma ve bazı bakteriler gibi farklı mikroorganizmalarla enfeksiyon, insan üreme fonksiyonunun çeşitli klinik belirtilerine yol açabilir. *Staphylococcus sp.*, flora bakterisi olmasına rağmen, cilt ve yumuşak doku enfeksiyonlarının ve hayatı tehdit eden sistemik enfeksiyonların önde gelen nedenidir (Golshani vd., 2006).

Bakteriler yaklaşık 0.5-1.0 µm çapındadır ve kümeler, çiftler ve bazen de kısa zincirler halinde görünürler. Stafilokoklar kan plazmasını pıhtılaştırma yeteneklerine göre iki gruba ayrılır. Koagülaz pozitif stafilokoklar en patojenik *Staphylococcus aureus* türünü oluşturur. Koagülaz negatif stafilokoklar (KNS), çoğu enfeksiyona neden olmadan cildin yararlı bakterileri olan 30'dan fazla türü içerir (Ivanov vd., 2009). Bilinen stafilokoklar arasında *S. aureus* en önemli insan patojenidir ve çok çeşitli klinik enfeksiyonlara neden olur (Gözükara vd., 2015).

Esas olarak burun pasajlarını, aynı zamanda cilt, ağız boşluğu ve gastrointestinal sistem gibi diğer anatomik lokalizasyonu kolonize eder. Kritik olarak, *S. aureus*'un erkek ve dişi genital sistemindeki en yaygın organizmalardan biri olduğu kanıtlanmıştır ve üreme hastalıkları ve infertilite patogenezindeki etkisi artan bir şekilde ilgi çekmiştir (Keleş, 2017). Ek olarak, *S. epidermidis* ve *S. haemolyticus* gibi merkezi sinir sistemini de enfekte edebilen ve erkek infertilitesi ile ilişkili bakteriler olarak bilinmektedir. Erkeklerde ürogenital sistem enfeksiyonları infertilitede önemli etiyolojik faktörlerden biridir. *Staphylococcus sp.* erkek üreme sisteminde tespit edilmiştir (Lozano-Hernández vd., 2017).

Erkek üreme organlarında ve aksesuar bezlerinde stafilokok enfeksiyonu sperm aktivitesi üzerinde zararlı etki yapabilir. Önceki çalışmalar stafilokokların sadece sperm aktivitesini etkilemekle kalmayıp epididim, seminal veziküller ve prostatın salgı kapasitesini de etkilediğini göstermiştir (AL-Ghizzawi vd., 2005). Aslında, stafilokoklar erkek üreme sisteminde tespit edilebilen en yaygın suşlardan biri olarak tanımlanmıştır. Bununla birlikte, stafilokoklarla enfekte olan erkeklerin yüzdeleri, farklı çalışmalarda kullanılan farklı izolasyon yöntemleri ve prosedürlerine göre değişir. *S. aureus* enfeksiyonunun semen kalitesini ve aktivitesini önemli ölçüde etkilediği gösterilmiştir. Spermın hacmini ve sperm konsantrasyonunu, ayrıca spermın motilitesini, morfolojisini ve canlılığını bozar. Bu nedenle, stafilokok enfeksiyonu ve erkek infertilitesi arasında nedensel bir ilişki olabilir. Önceki bir çalışmada, infertilite sorunu olan erkeklerden alınan semen örneklerinde % 20.6 oranında *S. aureus* enfeksiyonu bildirilmiştir (Liyun Shi vd., 2016).

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Erkek İnfertilitesi

Erkek infertilitesi, bir erkeğin en az bir yıl boyunca korunmasız cinsel ilişki yaşayarak doğurgan bir kadında hamilelik oluşturmaması olarak ifade edilir. Erkek infertilitesi, vakaların yaklaşık %20'sinde tek başına sorumlu iken tüm infertilite durumlarının %30 ila %40'ına katkıda bulunan bir faktördür. Genel olarak erkek faktörü, tüm infertilite durumlarının yaklaşık yarısında önemli ölçüde etkili olur (Leslie vd., 2023).

Erkek infertilitesinin değerlendirilmesi detaylı bir tıbbi öykü alınması, fiziksel muayene, endokrin değerlendirme ve sperm analizi gibi adımları içerir. Sperm analizinde, sperm konsantrasyonu, hareketliliği ve morfolojisi ile birlikte semen hacmi ve pH değeri gibi parametreler değerlendirilir. Ayrıca sperm canlılığı, lökosit varlığı ve olgunlaşmamış germ hücrelerinin sayısı da ölçülür ve elde edilen sonuçlar referans değerleri ile karşılaştırılır. Bu süreç, Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından belirlenen standartlar doğrultusunda gerçekleştirilir (WHO, 2010).

Erkek infertilitesi hormonal dengesizlikler, genetik sorunlar, fiziksel faktörler veya psikolojik/davranışsal etmenler gibi çeşitli nedenlerden kaynaklanabilir. Yetersiz beslenme, anemi, aşırı stres ve çeşitli çevresel tehlikeler de infertiliteyle ilişkilendirilmiştir. Bu tehlikeler arasında pestisitler, kurşun içeren boyalar, radyoaktif maddeler, cıva, benzen, bor ve diğer ağır metaller bulunmaktadır (Esteves ve Agarwal, 2011; Stuppia vd., 2015). Ayrıca ileri yaşın erkeklerde sperm kalitesini etkileyerek infertiliteye neden olabileceği de gözlemlenmiştir (Horta vd., 2019). Erkek infertilitesinin nedenleri arasında testislerin normal yerine inmemesi (kriptorşidizm), testis damarlarında genişleme (varikozel), sperm kanallarının tıkanması veya olmaması, iltihaplanmalar, alkol tüketimi, kanser tedavisi gibi çeşitli etkenler de sıralanabilir. Bununla birlikte, infertilitenin önde gelen nedenlerinden biri de genetik değişikliklerdir. İnfertil erkeklerde sıkça görülen genetik kusurlar arasında kromozomal anormallikler, gen kopya sayısında değişiklikler, tek gen mutasyonları,

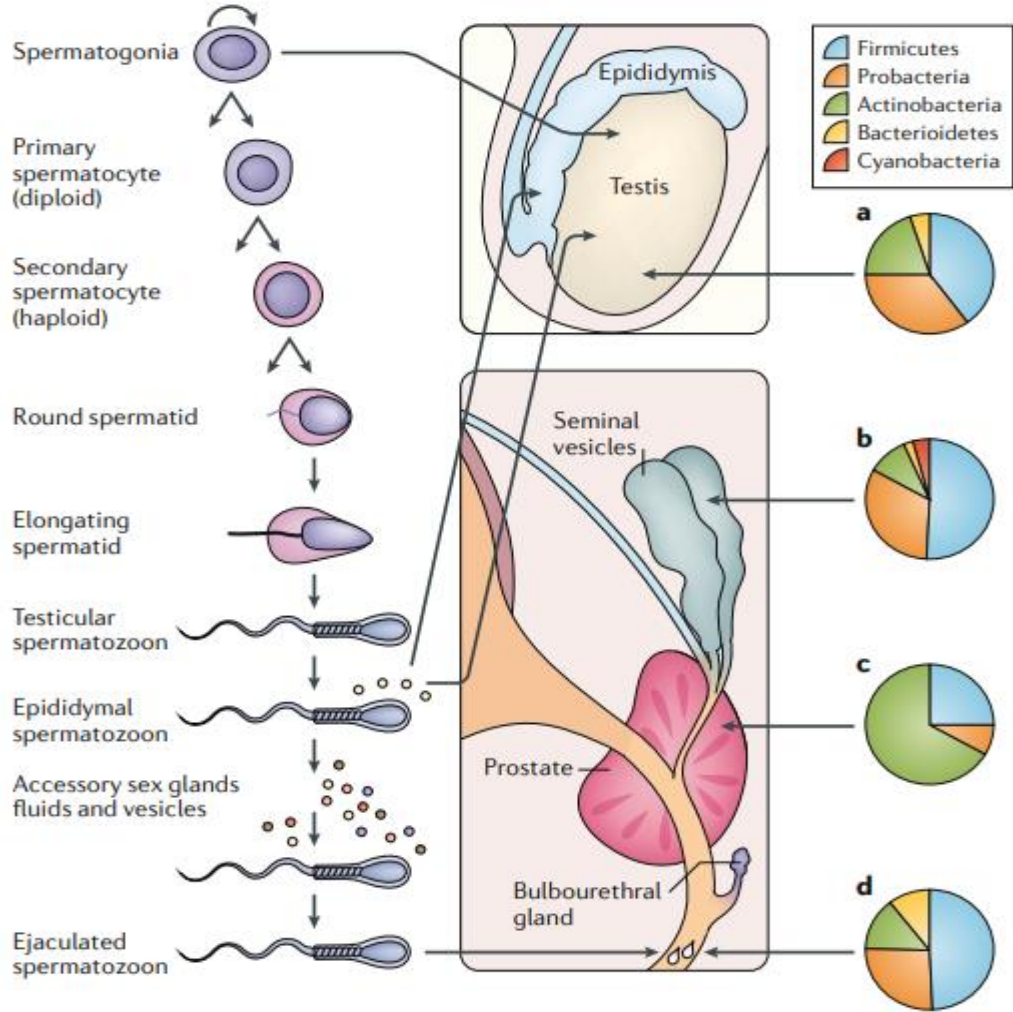
genetik varyasyonlar ve Y kromozomunun uzun kolundaki silinmeler (Yq mikrolelesyonları) bulunmaktadır. Bu genetik kusurlar erkek üreme organlarının gelişimini engeller, üreme hücrelerinin üretimini durdurur, olgunlaşmasını engeller veya işlevsel olmayan sperm hücreleri üretir. Erkek infertilitesinin önde gelen genetik nedenleri arasında kromozomal anormallikler ve Y kromozomu mikrolelesyonları yer almaktadır (Colaco ve Modi, 2018).

## 2.2. Fertil Erkeklerde Seminal Mikrobiyom

Semen, boşalmanın %90'ından fazlasını oluşturan seminal sıvıdır. Bu sıvı, epididimis, prostat, seminal veziküller, bulboüretal bezler ve periüretal bezlerin salgılarının bir karışımını içerir (Castillo vd., 2018). Semen, genellikle hafif alkali bir pH seviyesine sahiptir (pH 7,2-8). İçeriğinde lipitler, glikosakkaritler, glikanlar, inorganik iyonlar, bağışıklık bileşenleri, enzimler, nükleik asitler, proteinler ve peptitler gibi bileşenler bulunur (Ronquist vd., 2011; Jodar vd., 2016). Bu özellikleriyle, mikroorganizmaların gelişebileceği ideal bir ortam oluşturur. Özellikle, semende bulunan fruktoz, seminal kesecikler tarafından üretilir ve spermatozoonlar için metabolik bir enerji kaynağı sağlamanın yanı sıra mikroorganizmalar için de bir besin maddesi görevi görür (Javurek vd., 2016). Semendeki bakteri çeşitliliğinin nedeni, kültür ve polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) gibi mikrobiyal tespit yöntemleri ile ortak bir özellik sergilemediği, farklı enfeksiyon etkenlerinden kaynaklandığı gözlemlenmiştir (Mändar, 2013; Kermes vd., 2003). Ancak ileri dizileme tekniklerini kullanan çalışmalar, semenin kendi mikrobiyal topluluğunu barındırdığını öne sürmektedir (Weng vd., 2014; Monteiro vd., 2018; Hou vd., 2013; Baud vd., 2019).

Yapılan bir tanımlayıcı çalışmada bakterilerin semen kalitesi ve erkek fertilitesi üzerindeki etkilerini araştırmak amacıyla 96 semen örneği incelenmiştir. Sonuçta en yaygın tür olarak *Pseudomonas* (%9.85), *Gardnerella* (%4,21), *Lactobacillus* (%19.9), *Prevotella* (%8.51) görülmüştür. *Lactobacillus* ve *Gardnerella* oranı normal numunelerde önemli ölçüde daha yüksekken, *Prevotella*'nın oranı düşük kaliteli numunelerde önemli ölçüde daha yüksek bulunmuştur. Analiz sonuçları,

seminal bakteri topluluk tiplerinin semen sağlığı ile yüksek oranda ilişkili olduğunu göstermiştir. *Lactobacillus*'un yalnızca semen kalitesinin korunması için potansiyel bir probiyotik olmakla kalmayıp, *Prevotella* ve *Pseudomonas*'ın olumsuz etkilerine karşı koymada da yardımcı olabileceği belirtilmiştir (Weng vd., 2014).



**Şekil 2.2.1:** Erkeklerde ürogenital sistemde bulunan bakteri toplulukları (Castillo vd., 2018).

a. Testislerde, metastatik olmayan seminomlu erkeklerden alınan neoplastik olmayan örneklerde *Firmicutes* ve proteobakteriler baskındır (Alfano vd., 2018). b. Yabani tipteki farelerde seminal vezikülde mikrobiyom %50'den fazla *Firmicutes*'tan oluşur ve az miktarda Siyanobakteriler bulunur (Javurek vd., 2016). c. iyi huylu prostat kanserli erkeklerden alınan prostat dokusu, *Actinobacteria*'nın baskın olduğunu

gösterir (Cavarretta vd., 2017). d. Semende bulunan bakteri filumu çalışmalarından elde edilen verilere göre, sağlıklı erkeklerden elde edilen veriler, *Firmicutes*'lerin seminal mikrobiyomun yaklaşık %50'sini oluşturduğunu göstermektedir. İnsanlarda ise yaklaşık %25'i proteobakteriler, geri kalan %25'i ise *Actinobacteria* ve *Bacteroidetes*'ten oluşmaktadır (Chen vd., 2018; Mändar vd., 2017).

### 2.3. İnfertil Erkeklerde Seminal Mikrobiyom

Erkek infertilitesinin yaygın nedenleri arasında çeşitli genetik, immünolojik ve anatomik nedenlerin yanı sıra inflamasyonun erkek genital kanalında yol açtığı etkiler de bulunmaktadır (Mändar vd., 2017; Agarwal vd., 2015). İnflamasyon, aksesuar bezlerin salgı kapasitesinin bozulması, oksidatif stres, seminal kanalın anatomik tıkanıklığı veya mikroorganizmaların doğrudan sperm üzerinde etki etmesi gibi birkaç yol aracılığıyla azalmış semen kalitesiyle ilişkilendirilebilir (Monteiro vd., 2018; Calogero vd., 2017; Condrelli vd., 2017). Bu mikroorganizmalar, reaktif oksijen türlerinin ve inflamatuvar sitokinlerin aracılığı olmaksızın doğrudan sperme etki ederek inflamasyon oluşturmadan, ya mikroorganizmanın doğrudan spermatozoona yapışması yoluyla ya da sperm hareketliliğini değiştirebilen ve/veya apoptozis oluşturabilen çözünür faktörlerin üretilmesi yoluyla doğrudan spermatozoonun fonksiyonunu değiştirebilir (Monteiro vd., 2018; Calogero vd., 2017; Punab vd., 2013). Seminal mikrobiyotanın incelenmesi henüz başlangıç aşamasındadır ve erkek infertilitesinde inflamasyon ve ürogenital enfeksiyonların etkisi hakkında hala birçok soru cevaplanmayı beklemektedir. Özellikle bakterilerin hangi moleküler süreçleri tetikleyebileceği ve ardından konakçının negatif tepkisiyle hangi konakçı savunma faktörlerinin ilişkilendirilebileceği, semen kalitesindeki kayıp ve infertilite ile nasıl ilişkilendirilebileceği konusunda netlik kazanması gereken konular bulunmaktadır (Monteiro vd., 2018). Mikroorganizmalar, erkek üreme fonksiyonunu doğrudan veya dolaylı olarak etkileyebilir. Hareketli spermin aglütinasyonuna neden olarak, akrozom reaksiyonu yeteneğini azaltarak ve hücre morfolojisinde değişikliklere yol açabileceği gibi inflamatuvar yanıt tarafından üretilen reaktif oksijen türlerinin üretimi yoluyla da etkileyebilecekleri düşünülmektedir. Ancak, semende bakteri varlığının zararlı rolü konusunda tam bir fikir birliği bulunmamaktadır. Bir araştırmada, farklı bakteri türlerinin varlığı, semen kalitesinin incelenmesi amacıyla 20'si fertil, 226'sı

infertil olan ve infertilite kliniğine başvuran erkek bireylerin sperm örnekleri üzerinde çalışılmıştır. Spermiyogram, semen kültürü ve sperm transmisyon elektron mikroskobu (TEM) yöntemleri kullanılarak yapılan analizlerde, 246 hastanın spermiyokültüründe 79 örnekte *E.faecalis*, 50 örnekte *E.coli*, 33 örnekte *Streptococcus agalactiae*, 29 örnekte *Ureaplasma urealyticum*, 24 örnekte *S. epidermidis*, 23 örnekte *Streptococcus anginosus* ve 8 örnekte *Morganella morganii* tespit edilmiştir. Çalışma, *S. agalactiae* ve *S. anginosus* dışındaki tüm gruplarda motilitenin anlamlı olarak azaldığını göstermiştir. Bu durum, bakteriyel flagella ve pili gibi sabit aksesuar yapıların, örneğin *E. coli* ve *M. morganii*'nin, patojenitenin önemli bir belirleyicisi olabileceğini düşündürmektedir (Moretti vd., 2009). Tahranda yapılan bir çalışmada infertil erkeklerin semen örneklerini inceleyerek bakteriyosperminin, sperm parametrelerine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla infertilite kliniğine başvuran 88 infertil erkek bireyden alınan semen örnekleri incelenmiş, bakteri kültürü yöntemi ve mikrobiyolojik hızlı tanı testleri uygulanarak tanı konulmuştur. Semen parametrelerinin istatistiksel analizi SPSS programı kullanılarak yapılmıştır. Sonuç olarak 57 bireyin örneğinde üreme görülmemiş ve negatif kabul edilmiştir. 88 bireyin 31'inde (%35,22) en az bir patojen tespit edilmiştir. Bu bireylerin yedisinde *E.coli*, beşinde koagülaz negatif *Staphylococcus*, dördünde Grup B *Streptococcus*, ikisinde *Entrococcus*, ikisinde ise *S. aureus* görülmüştür. Hareketsiz ve morfolojik olarak anormal sperm oranı özellikle *E.coli* ve *Entrococcus* pozitif vakalarda daha yüksek bulunmuştur. Ancak, bakteriyospermi ile diğer semen parametreleri arasında belirgin bir ilişki saptanmamıştır (Golshani vd., 2006).

#### **2.4. Erkeklerde Reprodüktif Sistem Enfeksiyonları**

Genital enfeksiyonlar geniş bir hastalık yelpazesini kapsar ve çoğunlukla cinsel yolla bulaşan veya bulaşmayan hastalıklar olarak ortaya çıkar (Workowski ve Berman, 2011). Epididim, prostat, seminal veziküller, üretra, cowper veya bulbouretral bezler ve vas deferensin iltihaplanması olarak sırasıyla epididimit, prostatit, seminal vezikülit, üretrit, cowperit ve vasitit olarak adlandırılır. Ekstratestiküler kanalların ve erkek ektraseks organlarının enfeksiyonları genellikle bir bakteri veya virüs olan bir

enfeksiyon etkeninin kanallar aracılığıyla yayılması sonucunda oluşur. Erkek ürogenital sisteminin hematojen enfeksiyonları nadirdir. En yaygın enfeksiyon etkenleri, cinsel yolla bulaşan *Neisseria gonorrhoeae* ve *Chlamydia trachomatis*'tir (Krause W, 2008).

## 2.5. Cinsel Yolla Bulaşan Hastalıklar (CYBH)

CYBH yalnızca gelişmekte olan ülkeleri değil, gelişmiş ülkelerde de gençleri önemli ölçüde etkileyen bir sağlık sorunudur. CYBH; etkenleri bakteri, parazit, virüs başta olmak üzere vücut sıvıları ile birlikte oral, anal veya vajinal seks yoluyla cilt teması gerçekleşerek kişiden kişiye bulaşarak yaptıkları hastalıklar olarak tanımlanmaktadır (Fasciana T vd., 2022). CYBH'lar, birçok patofizyolojik mekanizma yoluyla infertiliteye neden olabilir. Ayrıca cinsel yolla bulaşan hastalık patojenlerinin cinsel partnerlere yatay bulaşması veya fetüslere ve yenidoğanlara dikey bulaşma olasılığı da mümkündür (Gimenes vd., 2014a; Gimenes vd., 2014b). Bakteriyel enfeksiyonlar sadece sperm hücresi fonksiyonunu değil aynı zamanda spermatogenezin tamamını da etkiler (Peerayeh vd., 2008). *N. gonorrhoeae*, *C. trachomatis*, *U. urealyticum* ve *M. genitalium* cinsel yolla bulaşan en yaygın patojenler arasında kabul edilir ve dünya çapında bir etkiye sahiptir (Gdoura vd., 2008; Krause, 2008). *C. trachomatis*, *Ureaplasma spp.*, insan papilloma virüsü (HPV), hepatit B ve C virüsleri, insan immün yetersizlik virüsü-1 (HIV-1) ve insan sitomegalovirüsünün (CMV) tümü testis, aksesuar bezi ve üretral enfeksiyonları olan semptomatik ve asemptomatik erkeklerin semenlerinde tespit edilmiştir. Bu patojenler, zayıf sperm kalitesi ve azalmış sperm konsantrasyonu ve hareketliliği ile ilişkilidir. Bununla birlikte, *Herpes simplex* virüsü (HSV) tip 1 ve tip 2, *N. gonorrhoeae*, *Mycoplasma spp.*, *Treponema pallidum* ve *Trichomonas vaginalis*'in etkileri gibi, bu CYBH ajanlarının semen kalitesi üzerindeki etkileri de belirsizdir, çünkü bunların etkisini değerlendiren çok az çalışma vardır. Erkek infertilitesinde, çoğu vakada kesin etiyolojik ajanlar bilinmemekle birlikte, kronik veya yetersiz tedavi edilen enfeksiyonlar, infertilite ile daha fazla ilişkilendirilmektedir (Gimenes vd., 2014a).

## 2.6. Cinsel Yolla Bulaşan Hastalık Patojenleri ve Erkek Fertilitesi Üzerindeki Etkileri

### 2.6.1. Chlamidya trachomatis

*Chlamidya trachomatis* erkek infertilitesi ile ilişkilidir çünkü üreme sistemi organlarındaki pelvik inflamasyonun ana nedenidir, epididimitin %40 ila 80'inden sorumludur ve sonuç olarak orşit ve prostatite neden olur. Dolayısıyla bu enfeksiyon kanaliküler sisteme zarar vererek testis atrofisine ve obstrüktif azospermiye neden olabilir. Epididim, sperm olgunlaşması üzerinde etki eder ve enfekte olduğunda sperm fonksiyonunu etkileyebilir (Greendale vd.,1993; Stephens vd., 2011; Gallegos vd., 2008). Bu süreç, inflamatuvar hücrelerin varlığına, epitelyumdaki ve mukus bileşimindeki değişikliklere bağlı olabilir (Paavonen ve Eggert-Kruse, 1999). Chlamydia enfeksiyonu spermde doğrudan hasara neden olarak hareketliliğin azalmasına, spermatozoanın canlı olmayan formlarının artmasına ve yüksek immunglobulin A (IgA) seviyelerine bağlı olarak hücre zarlarının lipid peroksidasyonunun artmasına neden olur. Ayrıca bu enfeksiyonun sperm hücrelerinde apoptozu tetikleyebileceğini ve DNA parçalanmasına yol açabileceği de gösterilmiştir (Sonnenberg vd., 2013). İran'da yapılan bir çalışmada, klinik olarak semptomsuz, anormal seminal parametrelere sahip 165 infertil erkek, normal seminal parametrelere sahip 165 doğurgan erkekten oluşan bir kontrol grubuyla karşılaştırılmıştır. İnfertil olduğu değerlendirilen 165 hastadan yedisinde *C. trachomatis* pozitif çıkarken, kontrol grubunda bakteri pozitif sonuç veren bir kişi bulunmaktadır. Her iki grubun seminal parametreleri karşılaştırıldığında konsantrasyon (milyon/ml), toplam sayı, ilerleyici hareketlilik A, ilerleyici hareketlilik B, toplam ilerleyici hareketlilik (A + B + C) ve morfoloji açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur. Bakteri pozitif olan hastalara 7 gün boyunca doksisisiklin tedavisi uygulanmış ve 30 gün sonra semen analizi tekrarlanmıştır. Böylece, spermatozoanın konsantrasyonu ve toplam ilerleyen hareketliliği (A + B + C) başta olmak üzere hemen hemen tüm parametrelerde istatistiksel olarak anlamlı bir iyileşme (>%57) meydana gelmiştir. Progresif hareketli sınıf A'da yalnızca %42,9'luk bir iyileşme gösteren bir istisna

gözlemlenmiştir. Başlangıç ve tedavi sonrası analizlerde hacim, pH, viskozite ve ilerleyici olmayan hareketlilik (sınıf C) açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır (Ahmadi vd., 2018).

Bunun yanında *C. trachomatis* enfeksiyonu morfoloji ve ileri hareketlilik gibi sperm parametrelerinin genelinde bozulmalara neden olabilir, moleküler düzeyde de DNA fragmantasyonunda artış gibi negatif bir etkiye sahiptir (Gallegos vd., 2008).

### 2.6.2. *Neisseria gonorrhoeae*

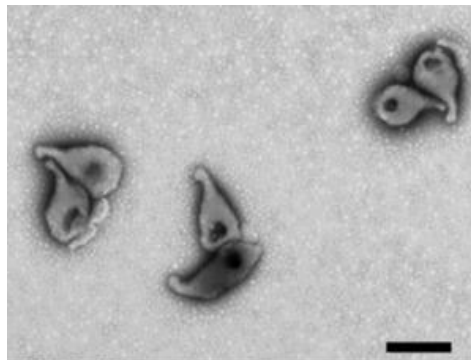
Cinsel yolla bulaşan hastalıklarda en sık izole edilen ikinci patojen *N. gonorrhoeae* 'dir (Fang L. vd., 2010). Sıklıkla üretrite nadiren de tek taraflı epididimoorşite neden olabilir. Obstruksiyona, inflamasyona ve testis fonksiyonlarında hasara dolayısıyla fertilitate potansiyelinde azalmaya da neden olabilir (Dohle, 2003; Ochsendorf, 2008). *N. gonorrhoeae* tipik olarak bitişik, kenarları düzleştirilmiş iki birleştirilmiş hücreden oluşur, mikroskopide karakteristik bir böbrek veya kahve çekirdeği görünümünde diplokok, Gram-negatif mikroorganizmadır; *Betaproteobacteria* bakteri sınıfına ve Neisseriaceae familyasına aittir ve yüzyıllardır insan konakçısıyla birlikte gelişmektedir. Neisseriaceae ailesi, *Neisseria* cinsini *Kingella* ve *Eikenella* gibi diğer cinsleri içerir (Elias ve Vogel, 2019; Adeolu ve Gupta, 2013; Tønjum ve van Putten 2016). *N. gonorrhoeae*, diğerlerinin yanı sıra oksijen, fizyolojik olmayan sıcaklıklar, kuruma ve toksik maddelerin varlığı gibi (birçok yağ asidi gibi) birçok çevresel faktöre duyarlı bir organizmadır (Morse, 1979). *N. gonorrhoeae*, erkek ve dişi ürogenital yolların mukozal epitelini, rektum, farenks veya konjonktivayı enfekte eder (Hook ve Handsfield, 2008). *N. gonorrhoeae* esas olarak korunmasız vajinal, anal veya oral ilişki yoluyla bulaşır. Vajinal seks sırasında erkeklerden kadınlara bulaşma oranları, kadınlardan erkeğe göre daha yüksektir (Hooper vd., 1978). Enfekte erkeklerin boşalması, organizmayı alıcı anatomik bölgeye etkili bir şekilde enjekte eden milyonlarca bakteri içerir. Organizmanın vajinal, rektal veya oral/faringeal bölgelerden erkek üretrasına nasıl etkili bir şekilde aktarıldığı tam olarak anlaşılamamıştır. *N. gonorrhoeae* enfeksiyonunun HIV ve diğer bazı cinsel yolla bulaşan hastalıkların bulaşma ve

bulaşma riskini arttırdığı dikkate alınmalıdır (Cohen vd., 1997; Price vd., 2003). Erkeklerde *N. gonorrhoeae* enfeksiyonu en yaygın olarak gonokokların enfekte etmeye yönelik eş zamanlı inflamatuvar yanıtından gelişen akut üretrit olarak ortaya çıkar (Ramsey vd., 1995).

Daha önce açıklanan, 93 infertil ve 70 fertil erkeği kapsayan Ürdün çalışmasında, infertil erkeklerin %6,5'inin semeninde *N. gonorrhoeae* DNA'sı tespit edilmiş ve fertil erkeklerin hiçbirinde tespit edilmemiştir. ( $p < 0,05$ ) (Abusarah vd., 2013).

### 2.6.3. Mycoplasma ve türleri

Üreme sistemi enfeksiyonları, semenin lökositosisine, iltihabi faktörlerin salınımına ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) değişmiş seviyelerine neden olabilir. Ayrıca, bunlar ikincil vas deferens tıkanıklığına yol açarak infertiliteye neden olabilir. Birçok patojen arasında yer alan *Mycoplasma spp.* ve *Ureaplasma spp.* bakterileri, erkeklerde üretranın doğal sakinleri olmalarına rağmen, potansiyel olarak patojenik türlerdir. Genital enfeksiyonlar ve erkek infertilitesi etiyolojisinde rol oynayabilirler (Farsimadan ve Motamedifar, 2020). Androloji açısından özellikle önemli olan iki patojen *Mycoplasma spp.* bulunmaktadır: *Mycoplasma genitalium* ve *Mycoplasma hominis*. Hem *M. hominis* hem de *M. genitalium*, ürogenital enfeksiyonlara neden olan androlojik olarak önemli *Mycoplasma spp.*'dir (Dessi vd., 2019; Horner vd., 2018; Jensen vd., 2022).



**Şekil 2.6.3.1:** *M. genitalium* elektron mikroskop görüntüsü (bar: 500nm) (Gnanadurai ve Fifer, 2020).

Erkek infertilitesi ile *Mycoplasma* enfeksiyonları arasında bir ilişki bulunmuş olsa da, *Mycoplasma* enfeksiyonları ile erkek infertilitesi arasındaki ilişkiyi araştıran az sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu konuyu ele almaya yönelik olan çalışmada İran'ın Yazd şehrindeki Merkez Laboratuvarı'ndan 136 hastadan (68 infertil erkek ve 68 fertil erkek) semen örnekleri toplanmıştır. *Mycoplasma spp.* açısından PCR kullanılarak incelenen 68 infertil ve 68 fertil erkekten alınan semen örneklerinden sırasıyla 13 (%19,12) ve 2 (%2,94) örnek pozitif bulunmuştur. *Mycoplasma* enfeksiyonu tespit edilen infertil erkeklerin 10'unda anormal sperm morfolojisi, altısında ise anormal sperm motilitesi görülmüştür. *Mycoplasma spp.* için pozitif olan örneklerin hiçbiri *M. hominis* için pozitif olmayıp, *Mycoplasma spp.* için pozitif olan örneklerden biri *Mycoplasma hyorhina* (strain NBRC 14858) türüne ait bulunmuştur. *Mycoplasma spp.* varlığı infertil erkeklerde belirgin şekilde daha yüksek tespit edilmiştir (p=0,003). *Mycoplasma* enfeksiyonu infertil erkeklerde oldukça yaygındır. Şaşırtıcı olan ise *M. hominis*'in yokluğu ve infertil erkeklerin semeninde *M. hyorhina* strain NBRC 14858'in bulunması durumudur. Bu nedenle, diğer *Mycoplasma spp.* tarafından neden olunan üreme yolu enfeksiyonlarının araştırılması erkek infertilitesinde dikkate alınmalıdır (Babakhani vd., 2022).

*U. urealyticum*'un yaygınlığı %10 ila %40 arasında değişmektedir ve prostatit, epididimit ve erkek infertilitesi ile ilişkilendirildiği düşünülmektedir (Reichart vd., 2001). Birkaç çalışmada, infertilitesi olan erkeklerin semeninde *U. urealyticum*'un tespit edilme oranı (%5 ila %58) fertil erkeklerinkinden (%3 ila %31) daha yüksek bulunmuştur (Andade-Rocha, 2003 ; Pellati vd., 2008). *U. urealyticum*, düşük pH'da sperm motilitesini azaltan ve yüksek pH'da sperm hızını artıran çift bir rol oynar, bu nedenle *U. urealyticum*'un infertiliteye neden olduğu mekanizma henüz net değildir (Knox vf., 2003).

#### 2.6.4 Stafilokok ve türleri

Stafilokoklar, neredeyse insan derisi ve mukozalarının %30'unu kolonize eden, insanlarda yaygın bir kommensal bakteri olan *S. aureus* ve koagülaz negatif stafilokoklar adı verilen türleri içerir. Bu türler arasında neredeyse tüm insan derisini kolonize eden *S. epidermidis* gibi türler bulunur (Grice ve Segre, 2011).

*S. aureus*, hastane veya toplum kaynaklı enfeksiyonlardan en sık izole edilen patojenlerden biridir. Stafilokoklar, her ortamda bulunan büyük bir bakteri grubudur; ancak, bu bakteriler yalnızca insanlarda veya hayvanlarda çoğalabilir. Birçok stafilokok türü, özellikle perineum ve farinks gibi deri ve mukozal zarlarda kolonize olur. Bu bakterileri barındıran diğer bölgeler ise gastrointestinal sistem, vajina ve koltuk altıdır, ancak bu alanlardaki taşıyıcılık daha az yaygındır (Kosecka-Strojek vd., 2018). Apseler, akciğer enfeksiyonları, bakteriyemi, endokardit ve osteomyelit, insanlarda *S. aureus* enfeksiyonlarından kaynaklanmaktadır (Tong vd., 2015). Geleneksel olarak stafilokoklar, ekstraselüler koagülaz enzimi üretimine dayalı olarak iki gruba ayrılmıştır: koagülaz-pozitif stafilokoklar (KPS) ve koagülaz-negatif stafilokoklar. İlk grup, *S. aureus*, *S. schleiferi*, *S. intermedius* ve *S. pseudintermedius* gibi iyi bilinen fırsatçı patojenlerle temsil edilir; ikinci grup ise geleneksel olarak nonpatojen veya fırsatçı patojenleri içerir, ancak son zamanlarda birkaç klinik rapor, özellikle yeni doğanlar veya bağışıklığı zayıflamış hastalar KNS'leri tehlikeli patojenler olarak sunmuştur (Heilmann vd., 2019). Birkaç tür, özellikle *S. hyicus*, *S. agnetis* ve *S. felis*, üçüncü gruba ait olan koagülaz-değişken stafilokoklara aittir. Bu türler genellikle KPS ile bir grup olarak sınıflandırılır ancak pıhtılaşma faktörleri üretemezler ve koagülaz üretim testleri değişken sonuçlar verir (Becker vd., 2014).

İnsan derisinde çeşitli stafilokok türleri kolonize olur, ancak en istilacı *S. aureus*'tur ve bunu *S. auricularis*, *S. capitis*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. hominis*, *S. saprophyticus*, *S. simulans* ve *S. warneri* takip etmektedir (Yu vd., 2017). KNS, kan örneklerinden en sık izole edilen mikroorganizmalar arasındadır. *S. aureus* suşlarıyla karşılaştırıldığında, invazif patojenler olarak sınıflandırılan KNS'nin klinik önemi kanıtlanmalıdır. KNS'nin varlığının gerçek bir bakteriyemi mi yoksa örnek

kontaminasyonu mu temsil ettiğini tahmin etmek önemlidir. Yapılan birçok çalışmada, bu türlerin genel olarak daha az yaygın olmasından dolayı, bu bakterilerin tür düzeyinde tanımlanmamış olmasından dolayı veya türler arasındaki farkların ayırt edilmemiş olmasından dolayı KNS'nin kan enfeksiyonlarıyla ilişkili gerçek etkisi tahmin edilememiştir. Ancak, birkaç çalışma, KNS'nin ciddi kan dolaşımı enfeksiyonlarına neden olabileceğini göstermiştir (Grzebyk vd., 2013; Li vd., 2016; Szczuka vd., 2016). Bu nedenle uygun koşullar altında KNS türleri oldukça patojenik hale gelebileceğinden, her bir enfeksiyonun seyrinin daha iyi anlaşılması için konakçıya özgü yeteneklerin ve suşa özgü özelliklerin yeniden değerlendirilmesi gerekir (Becker vd., 2014).

Stafilokoklar, bilindiği üzere hastalıklara neden olabilirler ve Micrococcaceae ailesine aittirler. Bu mikroorganizmalar, yuvarlak kok şeklinde ve 1 µm'ye kadar büyüklükte olabilirler. Stafilocokların belirgin özellikleri arasında, küme oluşturarak ve üzüm salkımı şeklinde görünmeleri bulunur. Bunlar hareketsiz, kamçısız ve spor oluşturmeyen organizmalardır. Kapsül oluşturma eğiliminde değildirler. Isıya karşı dirençlidirler ve 60°C'de 30 dakika boyunca ısıtılmaları etkinliklerini kaybetmelerine neden olmaz. Ayrıca, dezenfektanlara karşı direnç göstermezler (Arda vd., 1992).

Taşıyıcılar, enfeksiyonun yayılmasında rol oynarlar; *S. aureus*'un geçişi bir kişiden başka birine yakın veya doğrudan temas, kişisel eşyaların paylaşılması, gıda kontaminasyonu ve bu patojenleri taşıyabilen herhangi bir cansız nesne ile temas gibi dolaylı temas yoluyla olabilir (Taylor ve Unakal, 2023).

Güneydoğu Nijerya'daki infertil çiftlerin erkek partnerleri arasında antiklamidyal IgG antikorlarının yaygınlığını ve sperm kalitesi ile ilişkisini belirlemeyi amaçlayan bir çalışma yapılmıştır. İnfertil çiftlerin 282 erkek partneri incelenmiştir. İnfertilite, 40 yaş ve üzeri katılımcılar arasında (%45,1) daha yaygın bulunmuştur. Antiklamidya antikoru 156 (%55,3) katılımcıda tespit edilmiş ve sperm kalitesiyle anlamlı düzeyde ilişkilidir (P = 002; OR = 2,294; %95 CI = 1,36–3,88). Genel olarak 81'inde (%28,7) sperm kalitesi anormaldir. Sperm sayısı, ilerleyici hareketlilik ve canlılık, anormal sperm kalitesine sahip katılımcılarda normal sperm kalitesine sahip olanlara göre

önemli ölçüde düşüktür ( $P < 0.001$ ), morfoloji, hacim ve sıvılaşma süresi ise önemli ölçüde farklılık göstermemiştir ( $P > 0.05$ ). *S. aureus* kültürden izole edilen baskın organizma olup (122/282, %43,3), Streptococcus türleri ise en az izole edilen organizma (4/262, %1,4) olarak tespit edilmiştir. Antiklamidyal antikörlere karşı seropozitif olan katılımcıların semenlerinden seronegatif olanlara göre önemli ölçüde daha fazla *S. aureus* izole edilmiştir (80/156, %51,3 vs. 42/126, %33,3; OR = 2,105; %95 CI = 1,30–3,42) ;  $P = 0,003$ ) (Olibe vd., 2023).

Avrupa Üroloji Derneği (EAU) yönergeleri, semen içinde artmış lökositler durumunda semen kültürü yapılmasını önermektedir. Ancak, bu parametrenin klinik önemi tartışmalıdır. Ayrıca, infertil erkeklerde enfeksiyonların olası neden rolünün belirlenmesi, akut veya kronik enfeksiyonların tanımlanması klinik olarak önemlidir. Bu nedenle bu çalışma, enfeksiyon belirtileri olmayan veya seminal lökosit artışı gözlenmeyen infertil erkeklerde bakteriyel enfeksiyonların yaygınlığını ve türlerini değerlendirmeyi amaçlamıştır. İnfertilite kliniğine başvuran genital enfeksiyonlar için semptomsuz olan ve semen analizinde artmış lökosit sayısı olmayan 873 ardışık hasta verisi analiz edilmiş, her bir bireyden semen kültürü alınmıştır. Semende *C. trachomatis* ve *U. urealyticum*'u tanımlamak için polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) DNA'sı kullanılmış, ejakülatta  $\geq 10^3$  cfu/mL idrar yolu patojeni konsantrasyonunun bakteriospermi için anlamlı olduğu kabul edilmiştir. Semen analizinde ejakülatta lökosit sayısının  $10^3$ 'ün üzerinde olması lökositospermi olarak tanımlanmış, yapılan semen kültüründe 873 erkekte 96'sı (%11) ve 777'si (%89) sırasıyla üreme pozitif ve negatif olarak gösterilmiştir. Semen kültürü pozitif ve negatif olan erkekler arasında klinik parametreler açısından anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Lökositospermi olmamasına rağmen semen kültürü pozitif olan grupta toplam testosteron daha düşük bulunmuştur ( $p \leq 0,05$ ). En sık tespit edilen enfeksiyonlar *U. urealitycum* (%35) ve *Enterococcus faecalis* (%31) olurken, bunları *S. aureus* (%7), *C. trachomatis* (%6), *S. faecalis* (%4) ve diğerleri (%17) izlemiştir (Cazzaniga vd., 2019).

Streptokok, stafilokok, mikoplazma, klamidy ve üreoplazma gibi patojenik bakteriler, genital sisteme lökosit akışı ile akut enflamatuar bir yanıt oluşturarak

reaktif oksijen türleri (ROS) üretim seviyesini artırır (Sasikumar vd., 2013; Ochsendorf, 1999; Potts vd., 2000). Bu maddelerin fazlası sperm parametreleri üzerinde olumsuz etkilere sahiptir (Segnini vd., 2003). Hammadeh ve arkadaşları seminal plazmadaki ROS konsantrasyonunun artmasının sperm canlılığı, membran bütünlüğü, sperm yoğunluğu, kromatin kondensasyonu ve sperm DNA kırıkları üzerinde olumsuz etkileri olduğunu bildirmiştir (Hammadeh vd., 2008).

İran'da Golshani ve arkadaşları infertil erkeklerin %35,22'sinde en az bir patojen tespit etmiştir. *E. coli*, KNS (saprofitus), B grubu streptokoklar, %5,88 enterokoklar, *Candida sp.*, gonokoklar, *S. aureus*, *Klebsiella sp.* ve *Providencia sp.* izole edilmiştir (Golshani vd., 2006).

#### **2.6.5 Stafilokokların sperm üzerindeki etkisi**

*S. aureus*, vücuttaki çeşitli organları enfekte edebildiği için en patojen bakterilerden biridir (Gupta ve Prabha, 2012). Çeşitli çalışmalar seminal sıvı örneklerinden en sık izole edilen bakteri türünün *S. aureus* olduğunu ortaya koymuştur. Prabha ve arkadaşları seminal sıvı örneklerinin %51,85'inin *S. aureus* ile kontamine olduğunu bulmuştur (Prabha vd., 2011a). Ayrıca, Emokpae ve arkadaşları seminal sıvının %68,2'sinde *S. aureus* tespit etmiştir (Emokpae vd., 2009). Seminal sıvının *S. aureus* ile kontaminasyonu, tekrarlayan gebelik düşükleri riskini önemli ölçüde artırmıştır (Nabi vd., 2013). Bakteri türlerinin birçoğu sperm konvansiyonel parametreleri, kromatin yoğunlaşması ve DNA bütünlüğü üzerinde olumsuz etkilere sahiptir (Calogero vd., 2011). Deneysel enfeksiyon modülünde, insan sperminin *E. coli*, *S. haemolyticus* ve *Bacteroides ureolyticus* gibi bazı bakteri türlerinin süspansiyonlarıyla inkübasyonu sperm hareketliliğinin azalmasıyla sonuçlanmıştır (Fraczek vd., 2014).

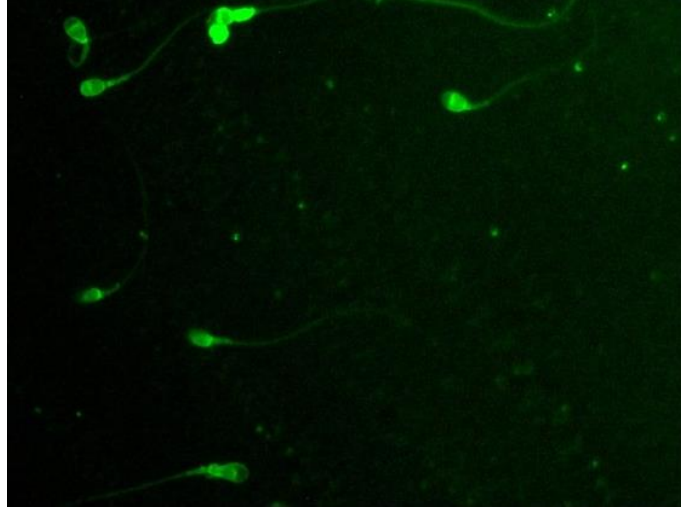
*S. aureus*, sperm immobilizasyon faktör (SIF) adı verilen bir protein molekülü (MW = 20 kDa) üretir. Bu protein Prabha ve arkadaşları tarafından izole edilmiş ve saflaştırılmıştır; burada SIF'in 150 mg/ml konsantrasyonda spermatozoanın tamamen hareketsizleşmesine yol açabildiğini, spermatozoayı öldürmek için ise bu faktörün

200 mg/ml'sinin gerekli olduğunu bildirmişlerdir (Prabha vd., 2009).Diğer bir çalışmada ise *S. epidermidis*'in sperm konsantrasyonu ve ilerleyen hareketlilik üzerinde olumsuz etkileri olduğunu göstermiştir (Golshani vd., 2006).

#### **2.6.6. Stafilokokların sperm patogenez mekanizması**

Spermatozoanın hareketliliği, spermi döllenme bölgesine iten flagellar harekete güç sağlamak için sperm mitokondrisi tarafından sağlanan ATP (adenozin trifosfat) formunda enerji gerektirir (Nelson, 1980; Alcivar vd., 1989). Bu nedenle, SIF ile etkileşimden sonra sperm hareketliliğinin inhibisyonunun ATPaz aktivitesindeki azalmaya veya biyolojik öneme sahip moleküllerdeki dengesizliğe bağlı olması mümkün görünmektedir. Ayrıca, klinik alanda insan sperminin döllenme yeteneğini tahmin etmek için insan sperminde akrozom reaksiyonunun analizi önerilmektedir (Ohashi vd., 1995).

Daha önce yapılan bir çalışmada, infertil bir kadının serviksinden, spermatozoanın %100 immobilizasyonuna neden olan bir *S. aureus* suşu izole edilmiştir. Sonrasında bu suştan SIF izole edilerek saflaştırılmıştır (Prabha vd., 2009). Böylece SIF'in  $Mg^{++}$ ATPaz aktivitesi ve akrozom reaksiyonu üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. Daha sonra SIF'e karşılık gelen reseptörü izole etmek için bir girişimde bulunulmuştur (Prabha vd., 2011b). Saflaştırılmış SIF, dikkate değer sperm immobilizasyon aktivitesine sahip, yaklaşık 20 kDa'lık bir proteindir ve 20 kDa'lık bu proteinin heat shock protein70 (hsp-70) proteini ile peptid sekans benzerliğine sahip olduğu görülmüştür.



**Şekil 2.6.6.1:** SIF ile inkübe edilmiş FITC etiketli insan spermatozoasının floresan mikroskobu (1000x) görüntüsü

FITC (fluorescein isothiocyanate) etiketli SIF'nin floresan mikroskobu kullanılarak spermatozoa ile bağlanma çalışmaları, SIF'nin spermatozoa yüzeyine bağlandığını göstermiş ve bu da SIF bağlanma reseptörünün varlığına işaret etmiştir. Reseptörün MALDI-TOF (matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight) ile karakterizasyonu, reseptörün MHC (major histocompatibility complex) sınıf II antijeni ile sekans benzerliğini paylaştığını göstermiştir. Kalorimetrik bir çalışma, reseptörün liganda bağlanmasının hem entalpik olarak ( $-11,9 \text{ kJ mol}^{-1}$ ) hem de entropik olarak ( $21.53 \text{ J mole}^{-1} \text{ K}^{-1}$ ) tercih edilmesi nedeniyle spermatozoa üzerindeki reseptör kısmının saflaştırılmış ligand için spesifik olduğunu göstermiştir. *S. aureus*'tan saflaştırılan SIF'nin spermatozoanın  $\text{Mg}^{++}$  adenzin trifosfataz aktivitesi üzerindeki etkisi incelenmiştir.

**Tablo 2.6.6.2:** SIF molekölünün Mg<sup>++</sup> ATPase aktivitesi üzerindeki etkisi

S.Number	SIF Konsantrasyonu ( $\mu\text{g}/\text{ml}^{-1}$ )	Mg <sup>++</sup> ATPase aktivitesi (units) *
Kontrol	-	931.7 $\pm$ 1.3
1	12.5	712.86 $\pm$ 2.3
2	25.0	574.86 $\pm$ 0.96
3	50.0	195.23 $\pm$ 2.3
4	100.0	0.004 $\pm$ 0.0025

Tabloda SIF'in spermatozoanın Mg<sup>++</sup> ATPase aktivitesini doza bağlı bir şekilde inhibe ettiği gözlemlenebilir (Gupta ve Prabha, 2012).

Ayrıca, akrozom reaksiyonunun değerlendirilmesi döllenme başarısını tahmin etmek için kullanılabilir. Spermatozoanın spontan akrozomal reaksiyon oranı in vitro fertilizasyonun (IVF) başarı oranıyla ilişkili olmasa da, indüklenmiş (kalsiyum iyonofor ile inkübasyondan veya düşük sıcaklığa maruz kaldıktan sonra) ve spontan akrozomal reaksiyon arasındaki farkla ölçülen indüklenebilirlik indeksi, sperm fertilizasyon kapasitesi için prognostik değere sahiptir (Henkel vd., 1993). SIF'nin insan spermi üzerindeki etkisi araştırıldığında, spermin SIF ile muamele edilen testlerde elde edilen akrozomla reaksiyona giren spermatozoa yüzdelerinin, kalsiyum iyonoforla tedavi edilen numunelerden (pozitif kontrol) elde edilenlerden tutarlı bir şekilde daha düşük olduğu bulunmuştur.

Bu çalışma sonucunda *S. aureus*'tan izole edilen SIF'nin spermatozoaya bağlanabileceği ve sperm yüzey proteininin SIF'e bağlanma için reseptör görevi görebileceği sonucuna varılabilir. Çalışma aynı zamanda reseptör-ligand etkileşiminin spermatozoanın SIF tarafından immobilizasyonundan sorumlu olabileceğini de göstermektedir. Bu nedenle, bu reseptör-ligand etkileşimleri yoluyla sperm immobilizasyonunun ayrıntılı moleküler mekanizmalarına ilişkin gelecekteki

çalışmalar, muhtemelen kısırlık tedavisindeki gelişmelere ve hem güvenli hem de etkili sperm immobilize edici kontraseptiflerin yaratılmasına yönelik girişimlere yönelik yararlı içgörülere yol açabilir ( Gupta ve Prabha, 2012).

### **2.6.7. Stafilocokların tayini**

*Staphylococcus*, *Streptococcus* ve *Micrococcus* genusları insanlarla ilişkili olup ayırt edilmesi gereken genuslardır. Morfolojik olarak her ne kadar belirgin farklar gösterebilir birbirlerinden ayırmak için yeterli değildir. Gram pozitif olan bu genusların birbirinden ayrılması için ilk kullanılan yöntem katalaz deneyidir. *Staphylococcus* ve *Micrococcus* katalaz pozitifken, *Streptococcus* katalaz negatiftir.

Mikrokokların stafilocoklardan ayrılmasında ise glikoz fermantasyonu deneyi kullanılır. Stafilocoklar fermantatif, mikrokoklar ise oksidatif üreme gösterirler. Bunun yerine lysostaphine deneyi de kullanılabilir. Stafilocokların çoğu lysostaphine duyarlıdır. Bu ayrımı yapabilmek için son zamanlarda üç test geliştirilmiştir. Bunlar; Furazolidone deneyi, modifiye oksidaz deneyi, basitrasine duyarlılık deneyi.

#### **2.6.7.1. Stafilocokların identifikasyonunda kullanılan başlıca deneyler**

1. Gram Boyaması: Stafilocokların tümü Gram pozitifdir.
2. Pigment Oluşumunun Araştırılması: Stafilocoklarda pigment oluşumu identifikasyonda büyük önem taşımaz.
3. Katalaz Deneyi: Stafilocok ve Mikrokokların (*Micrococcaceae*) *Streptococcaceae* familyası üyelerinden ayırt edilmesinde kullanılan deneydir.
4. Glikoz Fermantasyon Deneyi: Glikozlu oksidasyon-fermantasyon besiyerinde yapılır. *Micrococcus* cinsi oksidatif *Staphylococcus* cinsi fermantatif etki gösterir.
5. Koagülaz Deneyi: *S. aureus*'un diğer Stafilocoklardan ayırt edilmesinde kullanılan en önemli deneydir. Testte *S. aureus*'un salgıladığı bağımsız koagülaz araştırılır. Bu

enzim benzeri madde plazmada bulunan bir faktör (Coagulase reacting Factor= CRF) ile ilişki kurarak fibrinojeni pıhtılaştırır.

6. DNAase ve Termostabil Nukleaz (Thermonuclease) Deneyi: Koagülaz deneyinde zayıf reaksiyon sonucunda yapılır ve koagülaz sonuçlarını destekleyici deneylerdir. Ayrıca *S. aureus*'un *S. epidermidis*'ten ayrılmasında kullanılır. *S. aureus* DNAase ve termostabil endonükleaz oluşturur.

7. Lizostafin Duyarlılık Deneyi: Stafilokokların hücre duvarı yapısı olan peptidoglikanında glisin adında bir madde bulunur. Lizostafin enzimi glisinler arasındaki bağların çözülmesinde rol oynar. Stafilokoklar bu nedenle lizostafine duyarlı iken, mikrokoklarda bu bağlar olmadığı için dirençlidir. Stafilokokların hücre duvarı yapısı olan peptidoglikanında glisin adında bir madde bulunur. Lizostafin enzimi glisinler arasındaki bağların çözülmesinde rol oynar. Stafilokoklar bu nedenle lizostafine duyarlı iken, Mikrokoklarda bu bağlar olmadığı için dirençlidir.

#### 8. Stafilokokların Antibiyotik Duyarlılık Testleri ile Ayrımı

A) Polymxin Duyarlılık Deneyi: Bu test koagülaz negatif stafilokokların polimiksinlere karşı belirli konsantrasyonlarda dirençli olmaları, ancak diğer stafilokok türlerinin duyarlı olması ilkesine dayanır.

B) Novobiocin'e Duyarlılık Deneyi: *S. saprophyticus* ve daha nadir soyutlanan bazı KNS'ler bu antibiyotiğe dirençli iken *S. epidermidis* duyarlılık gösterir.

C) Neomycin'e Duyarlılık Deneyi: Streptokoklar neomisinli disklerde dirençli sonuç verirken stafilokoklar duyarlı sonuç verir.

D) Bacitracin'e Duyarlılık Deneyi: Stafilokoklar bacitrasin disklerine dirençli sonuç verirken mikrokoklar duyarlı sonuç verir. (Bilgehan, 2009).

### 2.6.7.2. Koagülaz negatif stafilokokların tayini

KNS kolonileri ve mikroskop görünümleri ilk bakışta *S. aureus*'a çok benzerdir. Soyutlanan stafilokok morfolojisindeki bir bakterinin identifikasyonu için ilk olarak koagülaz testi yapılır ve pozitif sonuç alındığında *S.aureus* olarak kabul edilir. Olumsuz sonuç alındığında en sık rastlanan KNS'ler olarak bilinen *S. epidermidis* ve *S. saprophyticus*'un ayırt edilmesi için novobiyosine direnç deneyi uygulanır. *S.saprophyticus* dirençli (16 mm'den küçük inhibisyon zonu), *S.epidermidis* duyarlıdır. Diğer KNS'lerin ayırt edilmesinde kullanılan deneyler ve özellikleri aşağıdaki tabloda verilmiştir.

**Tablo 2.6.7.2.1:**Koagülaz Negatif Stafilokokların ayırt edici özellikleri (Bilgehan H. 2009).

Tür	Arginin Ütilizasyonu	Üreaz	Mannitol	Sükroz	Trehaloz	Novobiyosine Direnç
<i>S. epidermidis</i>	+	+	-	Asit	-	-
<i>S. saprophyticus</i>	-	+	Asit/ -	Asit	Asit	+
<i>S. haemolyticus</i>	+	-	Asit/ -	Asit	Asit	-
<i>S. hominis</i>	-/+	+	-	Asit	Asit/ -	-
<i>S. warneri</i>	-/+	+	Asit/ -	Asit	Asit	-
<i>S. cohnii</i>	-	-	Asit/ -	-	Asit	+
<i>S. simulans</i>	+	+	Asit	Asit	Asit/ -	-
<i>S. sacharolyticus</i>	+		-	-	-	-

## 2.6.8. Prostatit

Prostatit, prostatın inflamasyonu demektir (Benoit vd., 1993).

Prostatitin, enfeksiyöz ve iltihaplı bir hastalık olduğu bilinmektedir. Bu durum, Amerika Birleşik Devletleri'nde 50 yaşın altındaki erkekler arasında en yaygın ürolojik sorundur. Bununla birlikte 50 yaşın üstündeki erkeklerde, benign prostat hiperplazisi ve prostat kanserinden sonra üçüncü sıklıkta görülen bir sorundur. Dünyada en yaygın kullanılan prostatit sınıflandırma sistemi, Amerikan Ulusal Sağlık Enstitüsü (NIH) tarafından geliştirilmiştir (Krieger vd., 1999).

**Tablo 2.6.8.1:** NIH'a göre prostatit sınıflandırması (Krieger vd., 1999; Aydın ve Yayıtkıl, 2021.)

Tip 1	Prostatın akut enfeksiyonu
Tip 2	Prostatın kronik bakteriyel enfeksiyonu
Tip 3	Kronik pelvik ağrı sendromu (KPAS): Standart yöntemlerle prostat içinde üropatojen bir bakteri olmadan kronik ürogenital ağrı olması
Tip 3A (İnflamatuvar)	Prostat masajı sonrası idrar sedimentinde, semende ya da prostat sekresyonunda belirgin lökosit (>10) bulunmasıdır.
Tip 3B (non- inflamatuvar)	Prostat masajı sonrası prostat sekresyonu, sediment ya da semende önemsiz sayıda lökosit (<10) bulunmasıdır.
Tip 4	Herhangi bir yakınması olmayanlarda infertilite ya da prostat kanseri araştırması için yapılan incelemelerde semende ya da prostatik histolojik örneklerde lökosit veya bakteri bulunmasıdır.

Prostat enfeksiyonlarının en yaygın patojenleri arasında *Klebsiella* türleri, *E. coli*, *E. faecalis*, *Proteus mirabilis* (*P. mirabilis*) ve *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) bulunmaktadır. 50 yaş altı erkeklerde görülen prostatitin üreme

üzerindeki etkisi önemlidir. Prostatit teşhisi genellikle semen ve ejakülasyon sonrası idrarda artmış lökosit seviyelerinin tespit edilmesiyle konular, ancak burada incelenen parametrelerin enfeksiyon dışı bir inflamasyonla ilişkili olup olmadığı hala tartışmalıdır (Nickel vd., 2003). Henkel ve diğerleri, kronik prostatitin spermin akrozom reaksiyonu olarak bilinen bir membran fonksiyonu üzerinde serbest oksijen radikalleri aracılığıyla gerçekleşen inflamatuvar bir tepkiyle olumsuz bir etki yarattığını göstermişlerdir (Henkel vd., 2006). Engeler ve diğer araştırmacıların, kronik prostatitin tip 3B formunun sperm motilitesinde ve fruktoz miktarında azalma olduğunu gösteren çalışmaları da mevcuttur (Engeler vd., 2003)

### **2.6.9. Epididimit**

Epididimit, iltihaplanma durumunu ifade eder. Epididimit iltihabını, ergenlik döneminden 35 yaşına kadar olanlarda, genellikle cinsel yolla bulaşan bir hastalık olan gerçek bir hastalıktan ayırmak gerekir. 35 yaşından büyük hastalarda ise, genellikle alt idrar yolu hastalığına ikincil olarak gelişen akut bakteriyel prostatitin doğrudan bir komplikasyonu olan bir durum söz konusu olabilir. Tedavi için uygun antibiyotik kullanımını gereklidir. (Phé ve Rouprêt, 2010).

Gram boyamada doğrudan mikroskopi altında Gram negatif intrasellüler diplokok görüntüsünün bulunması, *N. gonorrhoeae* enfeksiyonunu düşündürebilirken, üretral sürüntüde sadece lökositlerin bulunması, özellikle %2/3'ünde *C. trachomatis* enfeksiyonunu gösterebilir (Weidner vd., 1987).

Epididim, spermin depolandığı, membranının olgunlaştığı ve hareket yeteneği kazandığı bir bölgedir. Bu bölgede herhangi bir inflamasyon sonucunda sperm sayısında azalma, hareketlilikte bozulma veya işlev bozukluğu meydana gelebilir. Epididimitin başarılı bir şekilde tedavi edilmesine rağmen, olası sekel oluşumunun fertilité üzerindeki etkisi belirsizdir. İnflamasyona sekonder gelişen skarlaşma, obstrüktif azospermiye yol açabilir (Dohle 2003; Weidner vd., 1990).

### 2.6.10. Orşit

Testisin ağrılı, ödemli ve lokal veya sistemik bir hastalığa bağlı akut veya subakut/kronik olarak gelişebilen bir durumdur. Kısa süreli (altı haftadan az) akut bakteriyel orşit genellikle cinsel yolla bulaşan hastalıklarla veya üriner sistem enfeksiyonlarıyla ilişkilidir. Diğer yandan, subakut/kronik orşit vakaları genellikle kronik inflamasyona yol açan enfeksiyon dışı nedenlerle gelişir ve genellikle semptomsuzdur. Viral enfeksiyonlar da testis tutulumuna neden olabilir. En sık viral orşit nedeni kabakulak orşitidir, özellikle de kabakulak geçiren puberte sonrası hastaların %20-30'unda görülür. Kabakulak orşitinde %20'sinde orşit bilateraldir ve bilateral testis atrofisi ve azoospermiye yol açabilir. Diğer viral orşit nedenleri arasında *Coxsackie*, *Varicella* ve HIV bulunmaktadır (Chopra vd., 2015; Liu vd., 1994). Kronik orşitte meydana gelen inflamatuvar değişiklikler genellikle otoimmün orşitte de mevcuttur ve her iki durumda da testisin immün özerkliği bozulur (Schuppe vd., 2008). Otoimmün orşit, antisperm antikorlarının (ASA) varlığında testisin otoimmün inflamasyonudur ve genellikle sertoli hücreleri arasındaki kan testis bariyerinin bozulmasıyla meydana gelir. Otoimmün orşitler genellikle iki gruba ayrılır: Birincil otoimmün orşitler genellikle infertilite ile ilişkilidir ve çoğunlukla semptom göstermez; bununla birlikte, seminifer tübül membranlarına karşı oluşan ASA varlığı (%100) ile ilişkilidir. İkincil otoimmün orşit, semptomatik orşit veya sistemik bir otoimmün hastalığa/hastalığın vaskülitine bağlı olarak ortaya çıkabilir. ASA'lar, spermatozoidlerin ve spermatidlerin apoptozunu tetikleyerek spermatozoanın hareket kabiliyetini ve aglütinasyonunu engeller, böylece sperm-oosit etkileşimini etkileyebilir (Silva vd., 2014).

### 2.6.11. Üretrit

Üretrit, üretranın iltihabını ifade eder ve gonokokal (*N. gonorrhoeae* tarafından oluşturulan) veya nongonokokal kökenli (genellikle *C. trachomatis*, *Mycoplasma genitalium* veya *T. vaginalis* tarafından oluşturulan) olarak sınıflandırılır. En yaygın

belirtiler arasında disürinin, mukopürülan üretral akıntının, üretral rahatsızlık ve eritemin bulunması yer alır. Tanı kriterleri; tipik belirtiler, semptomlar veya öyküye ek olarak mukopürülan akıntı, üretral sekresyonların Gram boyamasında en az iki lökositin görülmesi, ilk idrarın yüksek büyütme alanında en az 10 lökositin görülmesi veya ilk idrarda pozitif lökosit esteraz sonucu gibi kriterleri içerir (Shell vd., 2021). Üretra inflamasyonunun sperm parametrelerine doğrudan bir etkisi yoktur. Ancak üretrit sonucu gelişebilecek epididimit veya skarlaşma nedeniyle oluşacak kısmi veya tam tıkanıklık, ejakülat hacminde azalmaya ve dolayısıyla fertilité potansiyelinde azalmaya yol açabilir (Rusz vd., 2012).

**Tablo 2.6.11.1:** Semen parametreleri referans değerleri (WHO, 2010).

Parametre	En Düşük Referans Aralığı
Volüm (ml)	1.5 (1.4-1.7)
pH	≥7.2
Sperm konsantrasyonu ( $10^6$ /ml)	15 (12-16)
Total sperm sayısı ( $10^6$ )	39 (33-46)
Total motilite (PR+NP, %)	40 (38-42)
Morfoloji (normal formlar, %)	4 (3.0-4.0)
Vitalite (canlı sperm, %)	58 (55-63)
Lökosit ( $10^6$ /ml)	<1.0

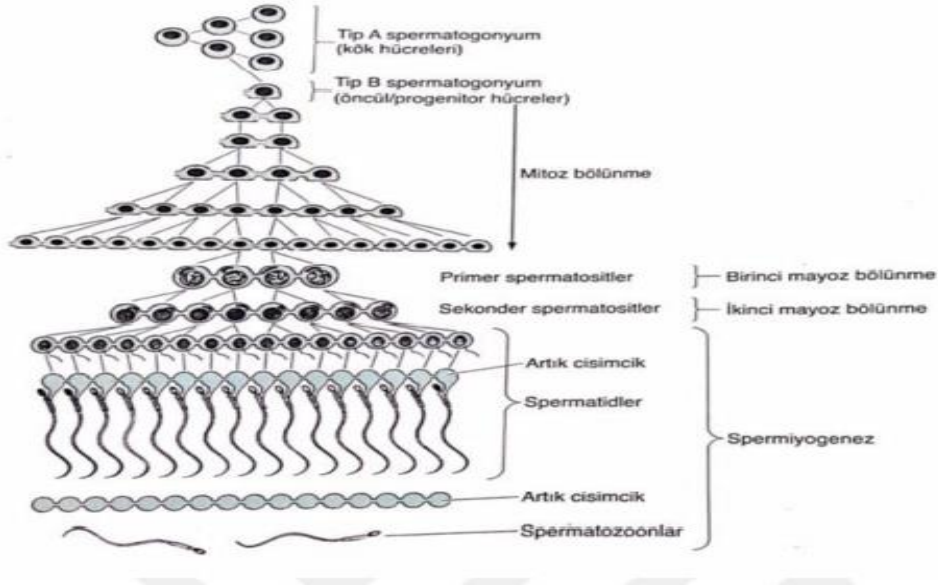
## 2.7. Spermatogenez

Spermatogenez, seminifer tübüllerde meydana gelen ve olgun erkek gamet üretimiyle sonuçlanan karmaşık bir süreç ağını kapsar. Süreçler şunlardır: Spermatogoninin çoğalması; spermatogoniyal farklılaşmanın spermatositlere dönüşmesi; spermatidleri üreten spermatositlerin mayotik bölünmesi; yuvarlak

spermatidlerin olgunlaşması ve oldukça özelleşmiş olgun spermatozoanın testiküler tübül lümenine salınması (Turek, 2016).

### 2.7.1. Spermatositogenez

Spermatositogenez, üç aşamada incelenir: Spermatogonyum kök hücreleri, mitoz bölünmelerle A tipi spermatogonyumları oluşturur. A tipi spermatogonyumlar, bir dizi mitoz bölünmeyle B tipi spermatogonyumlarına dönüşür. B tipi spermatogonyumlar, tekrar mitoz bölünmeler geçirerek primer spermatositler (44XY) haline gelirler. İlk mayoz bölünmelerinden yaklaşık 21-22 gün sonra profaz aşamasına ulaşır ve mayoz bölünme tamamlandığında 23 kromozumlu sekonder spermatositler (22Y veya 22X) meydana gelir. Sekonder spermatositler, bir sonraki mayoz bölünmeyi geçirerek spermatidleri oluşturur (Sharma vd., 2018).

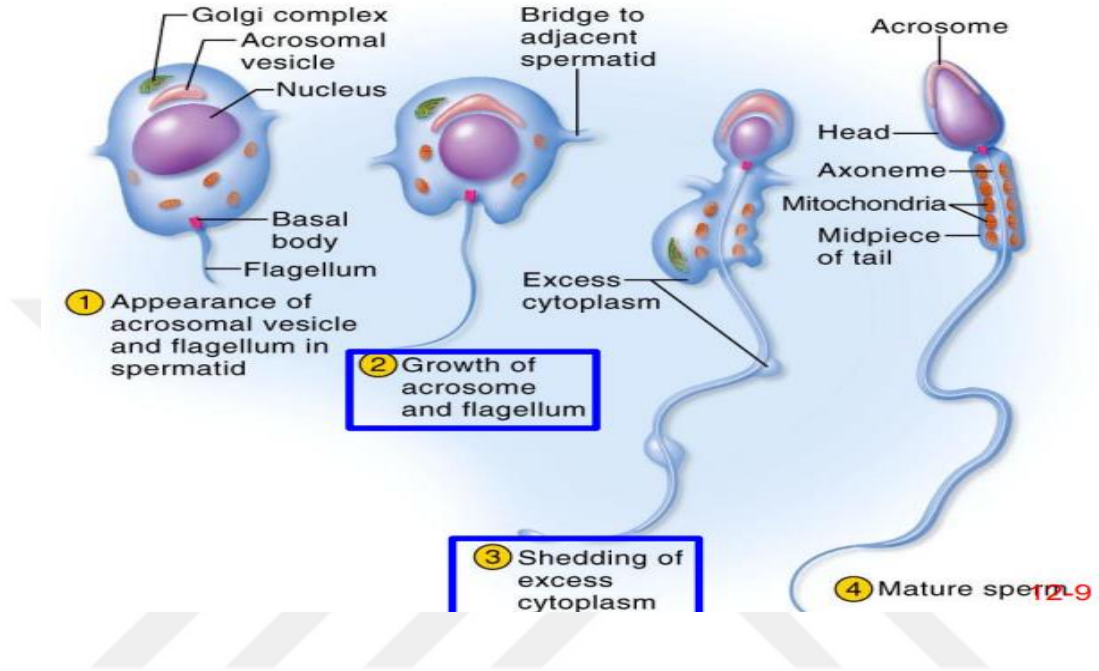


Şekil 2.7.1.1: Erkek germ hücrelerinin oluşumu (Junqueira vd., 1998).

### 2.7.2. Spermiyogenez

Spermiyogenez spermatidlerin olgun, hareketli spermatozoalara dönüştüğü spermatogenezin final aşamasıdır. Spermatid bir çekirdek, Golgi aygıtı, sentriol ve

mitokondri içeren dairesel bir hücredir. Tüm bu yapılar, spermatozoon oluşumunda görev alır. Mayozun tamamlanmasının ardından, haploid yuvarlak spermatitler, hücre iskeleti ağıyla kaplanmış küçük, non-polarize hücrelere dönüşerek spermiyogenezise başlarlar (Griswold, 2016).



Şekil 2.7.2.1: Spermiyogenez (Junqueira vd., 1998)

Spermiyogenez, mayoz bölünme sonrasında oluşan spermatidlerin olgun erkek üreme hücresi olan spermatozoaya (sperm) dönüşüm sürecini ifade eder. Bu süreç, Golgi aşaması, akrozomal aşama ve maturasyon aşaması olmak üzere üç fazda gerçekleşir.

1. Golgi Fazı: Golgi fazı olarak da bilinen bu aşamada, Golgi kompleksinde akrozomal granül adı verilen yapılar oluşur ve sperm hücresine hareket yeteneğini sağlayan flagellum burada gelişir.

2. Akrozomal Faz: Akrozomal faz olarak adlandırılan bu aşamada, sperm hücresindeki mitokondriler flagellumun proksimal bölgesinde bulunur ve hareket için gerekli olan enerjiyi sağlayarak spermin orta kısmını oluştururlar.

3. Olgunlaşma Fazı: Olgunlaşma fazı olarak da bilinen bu aşamada, sperm hücrelerinin tüm organelleri tamamlanır ve olgunlaşan spermler seminifer tübül lumenine aktarılır. Bu süreçte, çekirdek yoğunlaşır ve uzar, akrozom oluşur, flagellum gelişir ve sitoplazmanın büyük bir kısmı kaybolur. Spermiyogenez sürecinde, üreme hücreleri dölleme kabiliyetini kazanırken, spermlerin hareket yeteneğini sağlayan kuyruk da gelişir. Sonuç olarak, seminifer tübül lumenine salınan olgun spermatozoon meydana gelir (Junqueira vd., 1998).

## **2.8. Epididimal Maturasyon**

Spermatogenez sonucu ortaya çıkan testiküler spermatozoa, morfolojik olarak farklılaşmış olmasına rağmen hala fonksiyonel olarak olgunlaşmamış hücrelerdir, ilerleyici bir şekilde hareket edemez ve bir oositi dölleme yeteneğinden yoksundur (Orgebin-Crist, 1967 , 1969; Schoysman ve Bedford, 1986; Dacheux J.L ve Dacheux F, 2013; Jodar vd., 2017 ). İnsanlarda ve farelerde, spermatozoanın hareketliliği ve dölleme potansiyeli testislerden ayrıldıktan sonra, testis spermi epididimden geçerken ve erkek üreme sistemi boyunca kazanılır. Bu yolculuk sırasında sperm hücreleri, toplu olarak seminal plazmayı üreten epididim, prostat, seminal veziküller ve bulboüretal bezler tarafından salgılanan sıvılarla temas halindedir (Camargo vd., 2018). Bu karmaşık sıvı, spermin beslenmesi, olgunlaşması ve hayatta kalması için çok önemlidir ve erken kapasitasyonu önleyerek ve sperm-oosit tanınmasına ve etkileşimine katkıda bulunarak döllemede önemli bir rol oynar (Drabovich vd., 2014; Jodar vd., 2017; Camargo vd., 2018; Samanta vd., 2018; Barrachina vd., 2019). Bu testis sonrası modifikasyonlar, sperm çekirdeklerinin yüksek DNA sıkışması ve sitoplazmanın çoğunluğunun ekstrüzyonu nedeniyle transkripsiyonel ve translasyon açısından inert olan bir erkek gamete meydana gelir (Dacheux vd., 2012; Castillo vd., 2015; Jodar vd., 2016, 2017; Barrachina vd., 2018). Bu nedenle spermatozoanın testis sonrası fonksiyonel olgunlaşması, seminal plazmadan bileşenlerin eklenmesine atfedilir (Reilly vd., 2016; Jodar vd., 2017; Zhou vd., 2018; Barrachina vd., 2019; Hernández-Silva ve Chirinos, 2019).

İnsan epididimisi testisleri vas deferense bağlayan 6-7 m uzunluğunda boru şeklinde bir organdır. Sperm hücreleri testis tarafından üretildikten sonra oradan geçer ve epididimde iki haftaya kadar depolanır. Bu dönemde sperm hücreleri olgunlaşır, hareketlilik ve oositi dölleme yeteneği kazanır (Orgebin-Crist, 1969; Breton vd., 2016; Sullivan vd., 2019). Anatomik olarak epididim dört ana bölgeye ayrılır: başlangıç segmentleri, kaput, korpus ve kauda epididimitler (Turner, 1995; Belleannée vd., 2013; Breton vd., 2016; Sullivan ve Mieusset, 2016 ).

Epididim, sperm olgunlaşması, konsantrasyonu, korunması ve depolanması için benzersiz bir lümen ortamının oluşturulmasında temel rol oynayan ana hücreler, berrak hücreler, dar hücreler ve bazal hücreler dahil olmak üzere birçok hücreden oluşan psödostratifiye (yalancı çok katlı) epitelyumdan meydana gelir (Breton vd., 2016; Zhou vd., 2018).

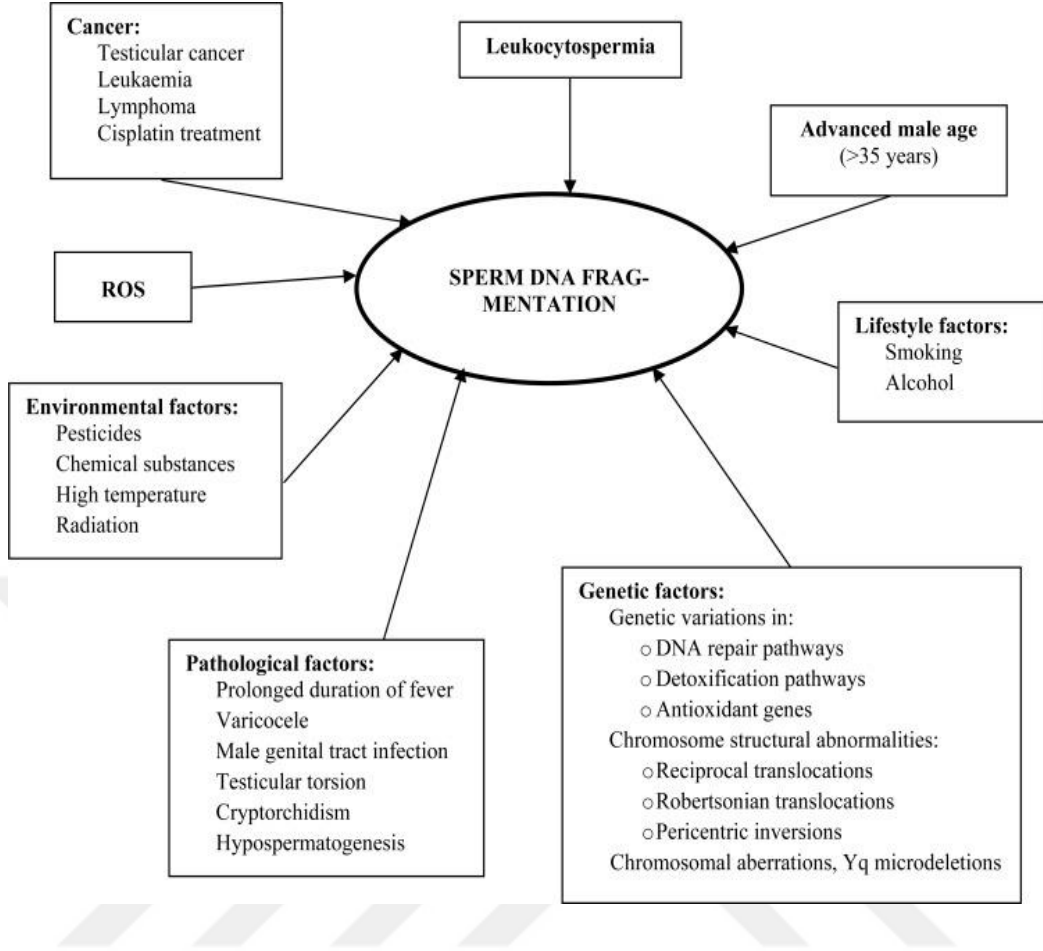
## **2.9. Sperm DNA Yapısı**

Sperm hücresinin nukleusundaki DNA, sıkıca paketlenmiş bir yapıdadır. Diğer vücut hücrelerinin DNA'sı histon proteinleriyle sarılıyken, sperm DNA'sında histonların %90-95'i protaminlerle değiştirilir. Bu değişiklik, TP1 ve TP2 geçiş proteinlerinin etkisi altındadır ve genellikle P1 ve P2 protaminlerini içerir. DNA ve protaminler, sperm çekirdeği içinde sıkıca sarılı bir şekilde bulunur, protaminler arasında çapraz disülfid bağları bulunur ve bu bağlar sperm çekirdeğinin sıkışmasında önemlidir. Histonlarla sarılmış kromatin gevşek bir yapıya sahipken, protaminlerle sarılmış kromatin yapıları daha sıkıdır. Histon paketlenmesinin artması, sperm DNA'sında hasar oluşumunu artırabilir (Güneş vd., 2013). Spermatozoa kromatin yapısının büyük çoğunluğu protaminlerle sıkıca sarılırken, sadece %15'lik bir kısmı histonlarla daha gevşek bir şekilde paketlenir. İnfertil erkeklerde, fertil erkeklere kıyasla artmış histon/protamin oranı tespit edilmiştir. Bu durum anormal kromatin paketlenmesi olarak bilinir ve spermin dış etkilere karşı artan hassasiyetine yol açabilir. İnfertil erkeklerin %5-15'inde protamin eksikliği olduğu gözlemlenmiştir (Tesarik vd., 2002).

## 2.10. Sperm DNA Fragmantasyonu

Sperm DNA fragmantasyonu, tek veya çift sarmallı DNA kırılmalarının yanı sıra eklentilerin birikmesini ifade eder ve sperm DNA kalitesini yansıtır. Mevcut veriler, yüksek veya düşük doğurganlığa sahip bireyler arasında sperm DNA kalitesinde farklılıklar olduğunu göstermektedir ve bu gözlem, sperm DNA parçalanmasının test edilmesinin erkek fertilitesi açısından yararlı bir test olabileceği fikrine yol açmıştır (Karavolos, 2021).

Erkek infertilitesinin önemli bir etmeni, sperm DNA'sının zarar görmesidir. Düşük kaliteli sperm DNA, doğurganlığın bozulmasına yol açabilir. Tüp bebek (IVF) tedavisi gören hastalarda, sperm hücrelerinin dölleme oranlarında genetik kusurların azaldığı gözlenmiştir. İntrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) sırasında hasarlı DNA'ya sahip sperm kullanılması, embriyoların genetik yapısının zarar görmesine yol açabilir. Bu nedenle, DNA parçalanma oranının bilgisi, dölleme başarısı ve sağlıklı embriyo gelişimi açısından önemlidir (Aksoy vd., 2009).



**Şekil 2.10.1:** Sperm DNA fragmantasyonunun başlıca nedensel faktörleri (Evgeni vd., 2014).

## 2.11. Sperm DNA Fragmantasyonunun Patogenezi

Sperm DNA kırılmalarına yol açabilen üç ana mekanizma bulunmaktadır. Bu mekanizmalar; spermatogenez aşamasında yanlış kromatin paketlenmesi, boşalma öncesinde hücre ölümü (apoptoz), ve semende yüksek düzeyde reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşmasıdır (Elder ve Dale, 2014). Sperm hücrelerindeki DNA hasarı, mitokondriyal ve nükleer DNA'da oluşabilir. Bu zarar, sperm hücrelerinin nakli veya üretim sürecinde meydana gelir ve spermatogenez sürecinde hücre ölümü gözlenir. Spermatogenez sürecinde, sperm kromatininin yeniden yapılandırılması sırasında DNA zincirinde kırıklar meydana gelebilir. Sperm DNA fragmentasyonunda etkili olan bir diğer mekanizma ise, spermlerin epididime taşınması sırasında testiküler hasardır. DNA

fragmentasyonu, testiküler spermle karşılaştırıldığında kaudal epididim ve ejakülasyon spermelerinde daha yüksektir (Sakkas ve Alvarez, 2010).

### **2.11.1. Apoptoz**

Fizyolojik koşullar altında, apoptoz, normal gelişim sırasında gerçekleşen, genomun parçalanması ve birkaç hücre proteinin kesilmesi veya parçalanması ile ayırt edilen genetik olarak kontrol edilen hücre ölümüdür. Apoptozun dengesizliği birçok hastalığın temel nedenidir. Normal sperm hücrelerinin apoptozu, sperm sayısının düzenlenmesinde belirleyici bir rol oynar, vücuttaki kromozomal anormalliklere sahip spermeleri hızla uzaklaştırır ve sperm kalitesini korur. Spermatogenez sırasında, sperm hücrelerinin %25 ila %75'i apoptoz tarafından yok edilir. 2010 yılında Jana ve arkadaşları, spermatogenez hücrelerinin erken apoptozunun temel olarak spermatogenez hücreleri ve hücre yüzeyinde ifade edilen Fas/Fas ligandları tarafından düzenlendiğini bildirdi (Jana vd., 2010). Lee ve arkadaşlarının çalışmasının sonuçlarıyla uyumlu olarak testis patolojik olarak değiştiğinde Fas/Fas ligand sisteminin anormal ifadesi ortaya çıkabilir (Lee vd., 1999). Ayrıca, sperm "apoptozdan kaçış" belirli apoptotik yollardan kaçınarak DNA parçalanması olan spermatojenik hücrelerin kaçmasına ve daha sonra parçalanmış DNA taşıyan olgun sperm hücrelerine dönüşmesine neden olabilir (Sakkas vd., 2003). Anormal sperm ve yumurtalar normal olarak döllenirse de embriyo 4-8 hücre aşamasına geldiğinde parçalanmış DNA, embriyonik apoptozu indükleyecek, blastosist oluşum hızını azaltacak ve embriyonik gelişimde anormal bir artışa ve erken düşüklere neden olacaktır (Alvarez vd., 2017; Fatehi vd., 2006).

### **2.11.2. Kromatin paketleme anomalileri**

Spermatogenezin bir aşamasında, kromatinin şekillendirilmesi sırasında histonlar protaminlerle değiştirilir, bu önemli bir süreçtir. Kromatin, histon hiperasetilasyonu ile gevşetilir ve süper sarılma kaynaklı burkulma stresini gidermek için sperm DNA'sında geçici çentikler oluşturan DNA topoizomerez II (Topo II) tarafından işlenir. Bu geçici çentikler, spermiyogenez ve ejakülasyondan önce aynı Topo II

enzimi tarafından onarılır. Onarım gerçekleşmezse, ejakülatta DNA'sı parçalanmış spermeler bulunabilir (Laberge ve Boissonneault, 2005).

### **2.11.3. Reaktif oksijen türleri**

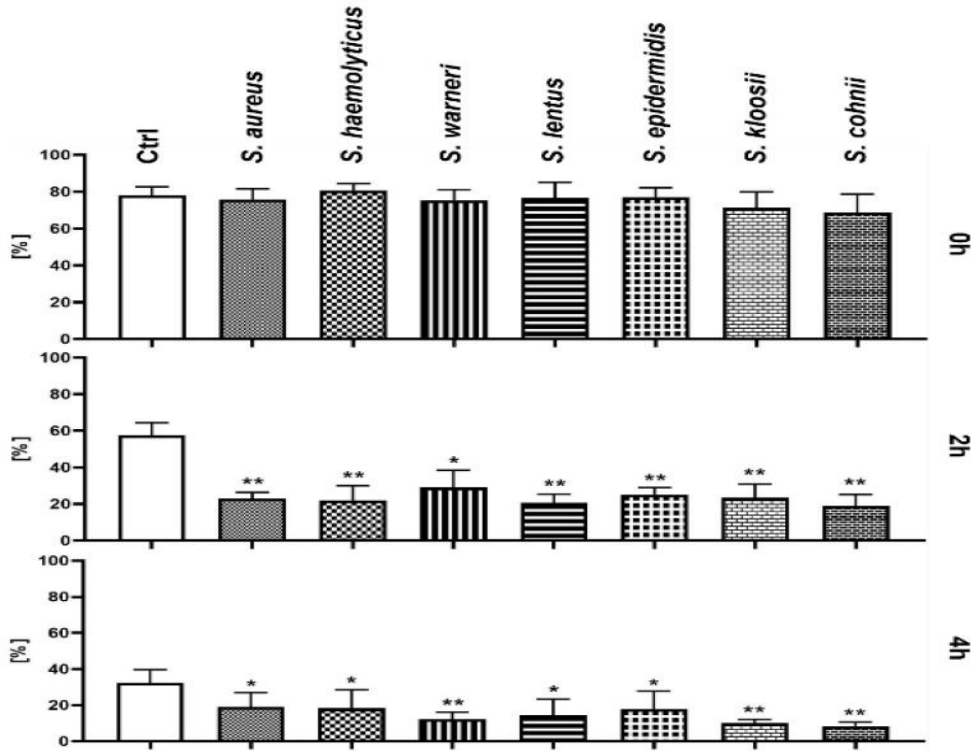
Oksidatif stres, sperm hücrelerini olumsuz etkileyen bir durumdur. Oksidanlar ve antioksidanlar arasındaki denge bozulduğunda, oksidatif stres ortaya çıkar. Reaktif oksijen türleri (ROS), yüksek düzeyde oksitlenmiş serbest radikallerin bir alt sınıfını oluşturur (Aitken vd., 1995). ROS, sperm plazma membranında lipid peroksidasyonuna neden olarak DNA'daki iplik hasarına ve fertilizasyondaki bazı protein aktivitelerinde değişikliklere yol açar. Mutajenik olan süperoksit ve hidroksil radikalleri, kardeş kromatin ve kromozom delesyonlarına neden olabilir (Shamsi vd., 2008). Fertil erkeklerde, semen içindeki antioksidanlar ROS hasarına karşı koruyucu etkiye sahiptir. Semendeki lökosit konsantrasyonunun 3 milyon/ml'yi aşması ROS'un kaynağıdır. Bu durumlarda, önemli ölçüde fertilizasyon bozukluğu gözlemlenmiştir (Zhou vd., 2007). İnfertil erkekler, semen parametrelerine bakılmaksızın, fertil kontrollerle karşılaştırıldığında antioksidan kapasitede azalma ile birlikte ROS düzeylerinde önemli ölçüde artış göstermektedir (Aitken ve Baker, 2006; Kullisaar vd., 2013)

Araştırmalarda, testiküler spermatozoalarda, epididimis proksimalinden elde edilenlere kıyasla anlamlı olarak daha düşük DNA hasarlı spermatozoan oranları tespit edilmiştir. Bu farkın, genital yolda spermatozoaları etkileyen ROS'un etkisi olabileceği öne sürülmüştür (Seli ve Sakkas, 2005).

### **2.12. Stafilokokların Sperm DNA Fragmantasyonuna Etkisi**

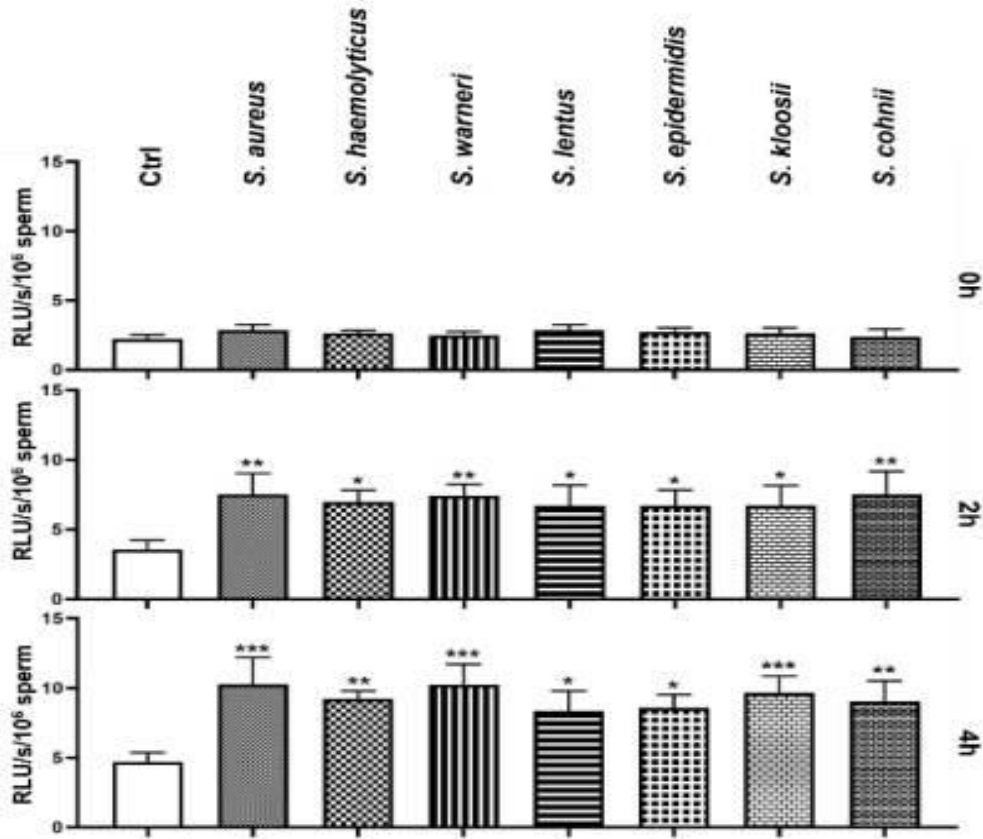
Hayvan sperması, ürogenital sistemin iç ortamından kaynaklanan fırsatçı bakteriyel patojenler tarafından sıklıkla kontamine olur. Özellikle stafilokok cinsine ait türler, sığır ejakülatlarında baskın olarak bulunur. Bu nedenle, in vitro koşullar altında *Staphylococcus*'un neden olduğu bakteriosperminin sığır sperm kalitesi üzerindeki etkilerinin daha yakından incelenmesini amaçlayan bir çalışmada beş sığır ejakülatından spermatozoalar ayrılmıştır. Daha önce sığır spermasından izole edilen yedi stafilokok türü deneylerde kullanılmıştır. Stafilokok türleri ile kontamine edilen

örnekler 37°C'de 0, 2 ve 4 saatlik sürelerde inkübe edilip hareketlilik, mitokondriyal membran potansiyeli, reaktif oksijen türleri üretimi, sperm DNA fragmentasyonu ve magnezyum ve kalsiyumun hücre dışı konsantrasyonu analiz edilmiş ve kontrol grubuyla karşılaştırılmıştır. Sonuçlar ilk ölçümde önemli bir değişiklik göstermemiştir. Ancak 2 saatlik ve 4 saatlik inkübasyondan sonra önemli olumsuz etkiler gözlemlenmiştir. En önemlisi, *S. aureus*, *S. warneri*, *S. kloosii* ve *S. cohnii*'nin varlığı, ROS üretiminde önemli bir artışa neden olmuş, bu da sperm DNA fragmentasyonuna, mitokondriyal membran potansiyelinde değişikliklere ve sperm hareketliliğinin azalmasına yol açmıştır. Ayrıca *Staphylococcus* türlerinin varlığı hücre dışı Mg ve Ca konsantrasyonlarının azalmasına yol açmıştır. Sonuç olarak, sığır spermasında staphylococcus bakterilerinin aşırı çoğalması, oksidatif strese katkıda bulunarak sperm DNA parçalanmasına, mitokondriyal membran potansiyelinin değişmesine ve sperm hareketliliğinin azalmasına neden olabilir.



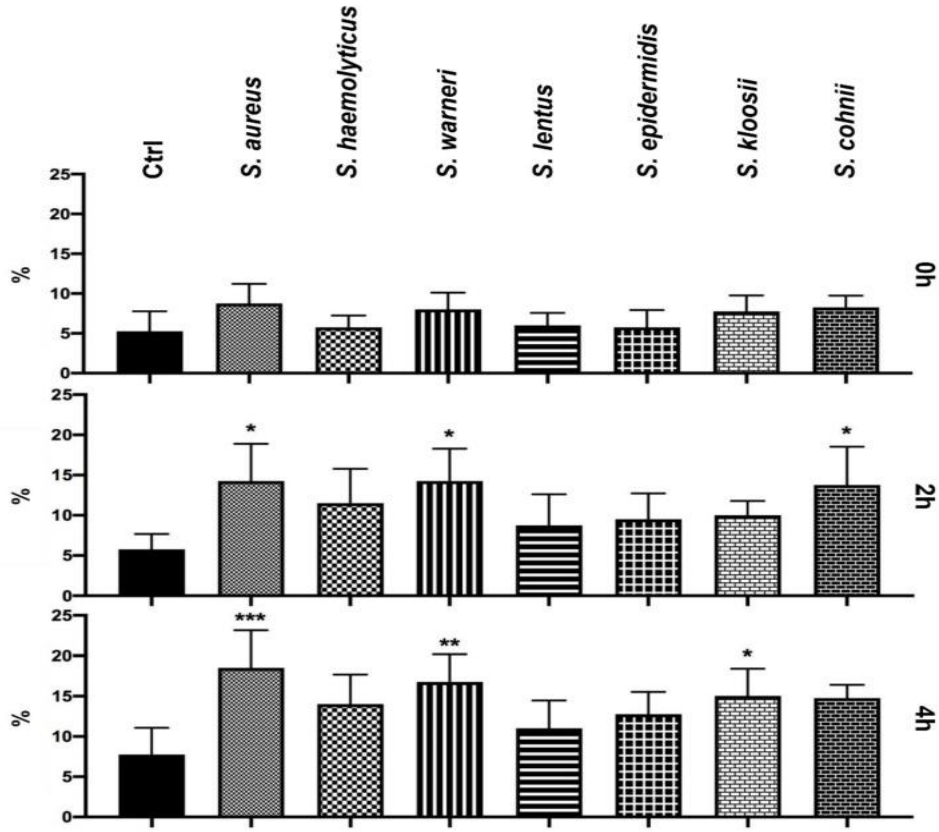
**Şekil 2.12.1:** 37°C'de in vitro 2 ve 4 saatlik bakteri/sperm ortak inkübasyonu sırasında sperm motilitesindeki değişiklikler.

Staphylococcus türleri ile inkübe edilen her grup, bakteri eklenmeyen kontrol grubuyla karşılaştırılmıştır. Her çubuk, hareketli sperm hücrelerinin ortalama yüzdesini ( $\geq 5 \mu\text{m/s}$ )  $\pm$  SEM temsil eder. Bu verileri elde etmek için beş ayrı deney yapılmıştır. İstatistiksel anlamlılık düzeyi \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ .



**Şekil 2.12.2:** 37°C'de in vitro 4 saatlik bakteri/sperm ortak inkübasyonu sırasında küresel reaktif oksijen türlerinin üretimindeki değişiklikler.

*Staphylococcus* türleri ile inkübe edilen her grup, bakteri eklenmeyen kontrol grubuyla karşılaştırılmıştır. Her çubuk  $10^6$  sperm hücresi  $\pm$  SEM başına saniyedeki bağlı ışık biriminin ortalama değerini temsil eder. Bu verileri elde etmek için beş ayrı deney yapılmıştır. İstatistiksel anlamlılık düzeyi \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ .



**Şekil 2.12.3:** 37°C'de in vitro 4 saatlik bakteri/sperm ortak inkübasyonu sırasında sperm DNA parçalanmasında meydana gelen değişiklikler.

*Staphylococcus* türleri ile inkübe edilen her grup, bakteri eklenmeyen kontrol grubuyla karşılaştırılmıştır. Her çubuk, sperm kafasının içindeki parçalanmış DNA'ya sahip spermatozoanın ortalama yüzdesini temsil eder  $\pm$  SEM. Bu verileri elde etmek için beş ayrı deney yapılmıştır. İstatistiksel anlamlılık düzeyi \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ . (Đuračka vd., 2021).

Sperm DNA hasarının doğal gebe kalma olasılığı ile negatif bir ilişkisi vardır. Sperm kromatin yapı analizi (SCSA) testleriyle değerlendirilen sperm DNA fragmantasyon (SDF) indeksi %20–30 olduğunda, doğal gebelik olasılığı azalır (Agarwal vd., 2016). Bazı çalışmalar, %30'dan daha yüksek SDF seviyelerinin düşük gebelik oranlarıyla ilişkili olduğunu öne sürmektedir (Agarwal vd., 2016; Zini, 2011). Benzer şekilde, SDF tekrarlayan düşük gebeliklerle ilişkilendirilmiştir (Ford ve Schust, 2009). Tekrarlayan spontan 30 düşük vakası ve 30 kontrol grubu üzerinde yapılan bir çalışmada hasta grubunda daha yüksek SDF oranı bulunmuştur (Khadem vd., 2014).

## **2.13. Sperm DNA Fragmantasyon Tespit Yöntemleri**

DNA hasarlı sperm oranını ve bu hasarların derecesini belirlemek için çok sayıda farklı yöntem tarif edilmiştir. Başlıca yöntemler şu şekildedir: Tek Hücre Jel Elektroforezi (COMET) Testi, Sperm Kromatin Yapısı Testi (SCSA), Akridin Turuncu Testi (AOT), Terminal Deoksinükleotidil Transferaz Aracılı Deoksiüridin (TdT) Trifosfat (dUTP) Nick End Etiketleme (TUNEL) Testi ve Sperm Kromatin Dispersiyonu (SCD) ) testidir (Küçük, 2018).

### **2.13.1. Akridin oranj (AO) testi**

AO, çift sarmallı ve normal olan doğal deoksiribonükleik asit (DNA) ile bağlandığında yeşil floresan verirken, denatüre edilmiş DNA (tek sarmallı) ile bağlandığında kırmızı floresan verir. Hücre biyologları tarafından yaygın olarak kullanılan birçok teknik, DNA'nın in situ denatürasyonunu indükleyen yöntemler içerir. DNA'nın denatüre olması, yani çift sarmallı DNA'nın iki tek sarmallı parçaya ayrılması, çeşitli kimyasal yöntemler veya ısı ile indüklenir (Tejada vd., 1984). Evenson ve arkadaşları, AO ile sperm boyanmasının, örneğin alındığı bireyin fertilitasını tahmin etmelerine olanak tanıdığını göstermiştir. Bu prosedürde, infertilite sorunu olan bireylerin spermleri, aynı türden fertil bireylerinkine kıyasla yüksek olan kırmızı floresansa sahiptir. Bu sonuçlardan, spermin DNA'sının denatürasyona karşı direncinin fertilitede önemli bir parametre olduğunu çıkarıyoruz (Evenson vd., 1980).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Çalışmaya Dahil Edilen Gruplar ve Özellikleri

Bu çalışma, Ocak-Nisan 2023 tarihleri arasında Şişli Memorial Tüp Bebek Merkezi'ne infertilite nedeniyle başvuran 22-48 yaş aralığındaki erkek bireylerden alınan 2-7 günlük cinsel perhiz sonrası mastürbasyon yoluyla elde edilen semen örnekleri üzerinde gerçekleştirilmiştir. Çalışmaya toplam 40 birey katılmıştır. Semen örneklerinin Gram boyamasında lökosit görülmemesi ve kültür ekiminde herhangi bir üreme olmaması durumunda, normospermik bireyler kontrol grubu olarak kabul edilmiştir. Gram boyamasında lökosit görülen, kültür ekiminde üreme olan ve gerekli tanı testleri sonucunda stafilocok tanısı konulan bireyler ise hasta grubu olarak sınıflandırılmıştır. Azospermik ve ileri oligospermik, astenospermik, teratospermik hastalar çalışmaya dahil edilmemiştir. Çalışmamızda 18 birey kontrol grubu olarak değerlendirilirken, 22 birey enfeksiyonlu (*S. aureus* + KNS) olarak tanımlanmıştır. Enfeksiyon grubunda 4 bireye *S. aureus*, 18 bireye KNS tanısı konmuştur.

#### 3.2. Gereç Listesi

##### 3.2.1. Mikrobiyoloji deneyleri için kullanılan malzemeler

- %5 Koyun kanlı agar
- Lam
- Öze
- İspirto ocağı
- Pasteur pipeti

- Filtre kâğıdı

- Gram boyama seti

- Gram kristal moru çözeltisi
- Gram lugol çözeltisi
- Gram denatüre alkol
- Gram fuksin çözeltisi

- %3'lük H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

- Buyyon besiyeri

- İmmersiyon (Sedir) yağı

- Işık mikroskobu

- Etüv (37°C)

- Antibiyotik diskleri

- Basitrasin (Bacitrasin 0.04 units)
- Sefoksitin (Cefoxitin 30 µg)

- Kan plazması

- Santrifüj cihazı

- Cam tüp

- Parafilm

### **3.2.2. Sperm maturasyonu deneyi için kullanılan malzemeler**

- %5'lik Anilin blue boyası

- Rodajlı lam

- Distile su

- Lamel

- %10'luk formalin

- Şale

- Mikropipet

- 20 µl'lik pipet ucu

### **3.2.3. Sperm DNA fragmantasyonu deneyi için kullanılan malzemeler**

- Eppendorf

- Rodajlı lam

- Santrifüj cihazı

- Hassas tartı

- Distile su

- Mikropipet

- 20 µl'lik pipet ucu

- Carnoy fiksatif
- Akridin oranj boyası
- Floresan mikroskop
- Tyrodes solüsyonu
- Şale

### **3.2.4. Sperm DNA fragmantasyonu deney solüsyonları**

#### **3.2.4.1. Asidik Tyrodes solüsyonunun hazırlanması**

Uygun bir kaba 800 ml distile su konmuştur. Çözeltiye sırasıyla;

- 8 gr sodyum klorür
- 0,2 gr potasyum klorür
- 0,24 gr kalsiyum klorür dihidrat
- 0,1 gr magnezyum klorür heksahidrat
- 1 gr glikoz
- 4 gr polivinilpirolidon (PVP) eklenerek çözelti 1 litreye tamamlanmıştır.

#### **3.2.4.2. Stok akridin orange (AO) çözeltisi, AO boya solüsyonu ve Carnoy fiksatifinin hazırlanması**

Stok AO çözeltisi: %1 AO distile suda hazırlanır (1 gr AO/100 ml distile suda çözülür).

AO boya solüsyonu:

- 10 ml stok AO çözeltisi
- 40 ml 0,1 M sitrik asit (19,212 gr/ 1 litre distile su)
- 2,5 ml 0,3 M  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (268,07 gr/ 1 litre distile su)

Carnoy fiksatif: (75 ml metanol, 25 ml asetik asit)

### **3.2.4.3. Stok Etidyum Bromür çözeltisinin ve Etidyum Bromür boyasının hazırlanması**

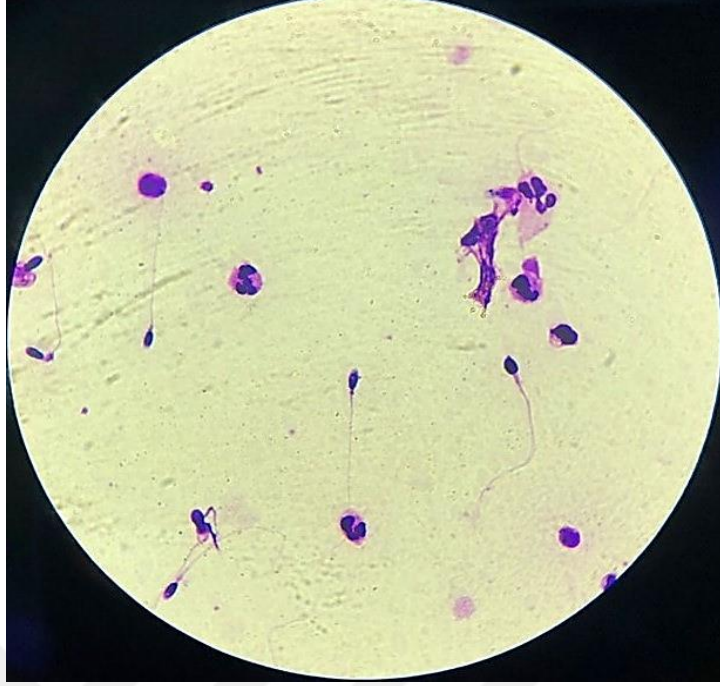
STOK ÇÖZELTİSİ: 10 ml distile su içerisinde 00,1 gr etidyum bromür çözülmüştür.

BOYA ÇÖZELTİSİ: 50 ml distile su içerisinde 1 ml stok etidyum bromür çözeltisi eklenerek hazırlanmıştır.

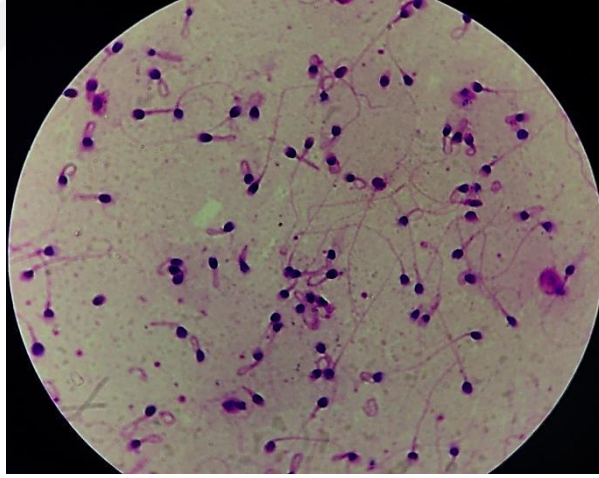
## **3.3. Çalışmada Kullanılan Yöntemler**

### **3.3.1. Mikrobiyolojik tanı**

Alınan her bir örnekten lökosit varlığı incelemesi için steril öze yardımıyla yayma preparat hazırlanmıştır. Kuruması beklenmiş ve kuruyan preparatlara Gram boyama yapılmıştır. Gram boyama için preparata Gram kristal moru çözeltisi damlatılarak 2 dk beklenmiş ve akarsuda yıkanmıştır. Gram lugol çözeltisi damlatılarak 2 dk sonunda akarsuda yıkanmıştır. Sonrasında Gram denatüre alkol ile 15 saniye muamele edilip tekrar akarsuda yıkanmış ve son olarak Gram fuksin çözeltisi damlatılarak 30 saniye sonunda akarsuda yıkanarak filtre kâğıdı arasında kurutulmuştur. Kuruyan preparatların örnek alınan yüzeyine 1 damla immersiyon (Sedir) yağı damlatılmış ve ışık mikroskobunda 100x immersiyon objektifinde incelenmiştir. Tüm alan taranarak lökosit varlığı tayin edilmiştir.



**Şekil 3.3.1.1:** Lökosit görülen preparat örneği



**Şekil 3.3.1.2:** Lökosit görülmeyen preparat örneği

Semen örneği, Gram pozitif bakteri üremesi yönünden araştırılmak üzere %5'lik koyun kanlı agar besiyerine öze yardımıyla azaltma yöntemi ile ekilmiştir. Besiyeri 37°C'lik etüvde 18-24 saat süre ile inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası üreme görülen besiyerlerindeki her bir koloni; koloni şekli, hemoliz ve pigment yönünden değerlendirilmiştir. Stafilokok olduğu düşünülen sarımsı, beyaz, krem

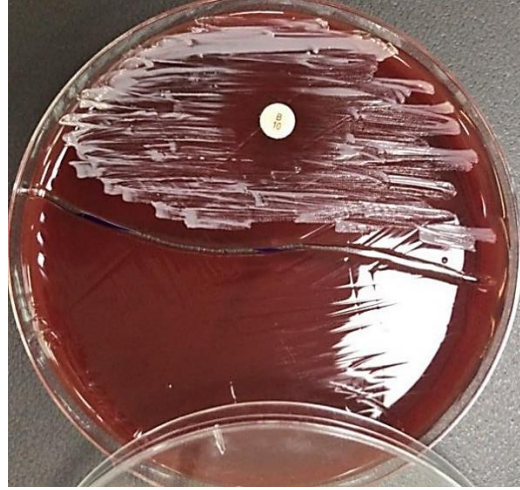
renği, β hemolizli ve hemolizsiz kolonilerin her biri ayrı ayrı lamlarda buyyon damlatılarak öze yardımıyla yayılmış, Gram boyama yapılmış ve ışık mikroskobunda x100 immersiyon objektifi ile incelenmiştir. Mikroskopta Gram pozitif kok şeklinde görülen koloniler streptokok ayrımı için katalaz testine tâbi tutulmuştur.

Katalaz testi için lama 1 damla %3'lük H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> damlatılarak bakteri kolonisinden öze yardımıyla alınan örnek yayılmıştır. Reaksiyon sonucu hava kabarcığı (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>+O<sub>2</sub>) görülen örnekler katalaz pozitif (+), hava kabarcığı görülmeyen örnekler katalaz negatif (-) kabul edilmiştir.



**Şekil 3.3.1.3:** Katalaz pozitif (+) örnek

Katalaz (+) örneklere mikrokok veya stafilokok ayrımı için antibiyotik testi yapılmıştır. Koloniden koyun kanlı agara pasaj yapılarak ekim yerine basitrasin antibiyotik diski konulmuştur. 37°C'lik etüvde 18-24 saat süre ile inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucu disk etrafındaki zon oluşumu dikkate alınarak duyarlı veya dirençli olduğuna karar verilmiştir. Basitrasine duyarlı olanlar mikrokok kabul edilmiştir.



Şekil 3.3.1.4: Basitrasin antibiyotiğine duyarlı örnek (mikrokok)

Basitrasin antibiyotiğine direnç gösteren kolonilere *S. aureus* veya KNS ayrımı yapabilmek için koagülaz testi yapılmıştır.



Şekil 3.3.1.5: Basitrasin antibiyotiğine dirençli örnek

Koagülaz testi için insan kan plazması kullanılmıştır. Cam tüp içerisine Pasteur pipeti ile 1 ml plazma konulmuş ve üzerine öze yardımıyla iki veya üç bakteri kolonisinden alınan bakteri örneği eklenerek karıştırılmıştır. Cam tüpün üzeri parafilm ile kapatılarak 37°C'lik etüvde 18-24 saat süre ile inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda pıhtılaşan plazmanın katılaşması gözlenerek

koagülaz pozitif (+) kabul edilmiş ve *S.aureus* tanısı konulmuştur. Pıhtılaşma sonucu katılaşmayan örnekler plazmanın sıvı kalması durumunda koagülaz negatif (-) kabul edilerek KNS kabul edilmiştir.

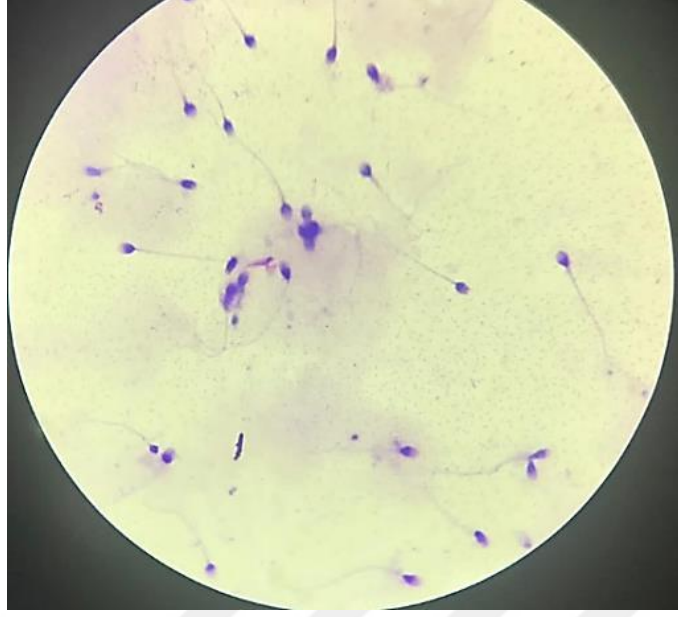


**Şekil 3.3.1.6:** Koagülaz pozitif ve koagülaz negatif örnek

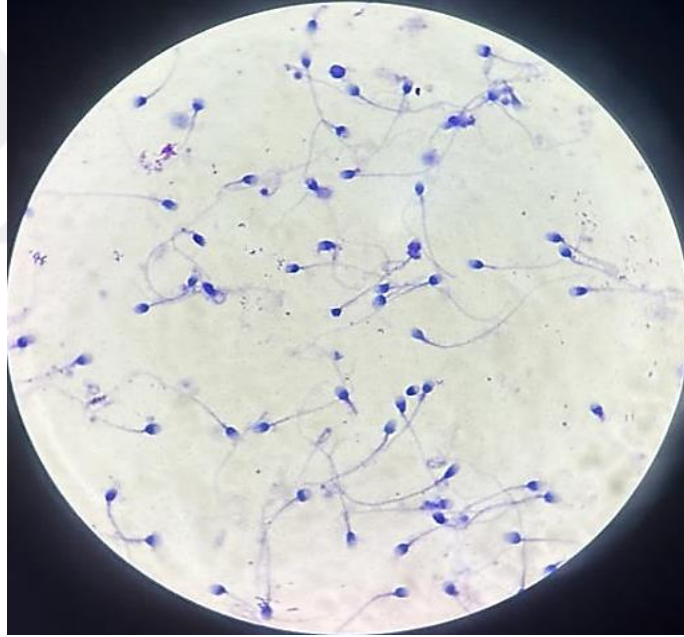
Koagülaz pozitif örnekler metisiline direnç yönünden değerlendirilmek üzere pasaj yapılarak ekim yerine sefoksitin antibiyotik diski konulmuştur. 18-24 saat inkübasyon sonrası sefoksitin diski etrafında oluşan zon değerlendirilmiş ve dirençli olarak kabul edilenlere metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA), duyarlı olarak kabul edilenlere Metisiline duyarlı *S. aureus* (MSSA) tanısı konulmuştur.

### **3.3.2. May Grunwald ve Giemsa boyaması**

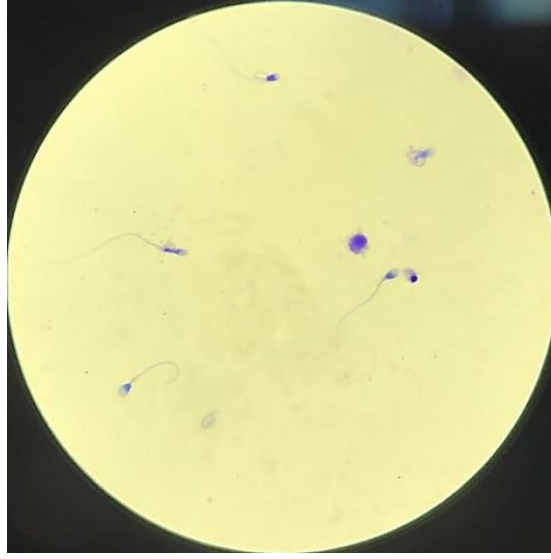
Sperm morfolojisinin değerlendirmesi amacıyla daha önce formaldehit ile fikse edilen preparatlar ilk olarak May Grunwald ile sonrasında Giemsa boyamasına tâbii tutulmuştur. May Grunwald ile 3 dk boyanan ve tespit edilen preparatlar sonrasında akarsuda yıkanmıştır. Preparat başına 3 ml olacak şekilde Giemsa boyası hazırlanmıştır. 3 ml distile suya 6 damla Giemsa boyası damlatılarak hazırlanan boya solüsyonu ile 15 dk boyanan preparatlar akarsu ile yıkanıp kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan örnekler ışık mikroskopunda x100 immersiyon objektifinde incelenip her bir hasta için 200 sperm saymak suretiyle morfojik olarak değerlendirilmiştir.



**Şekil 3.3.2.1:** Kontrol grubunda sperm morfoloji değeriendirme



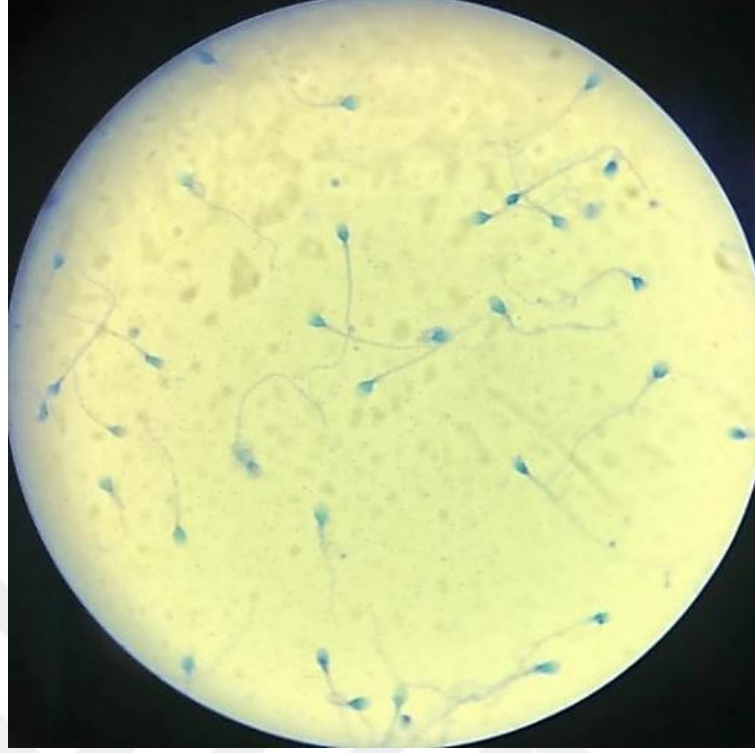
**Şekil 3.3.2.2:** KNS enfeksiyonlu grupta sperm morfoloji değeriendirme



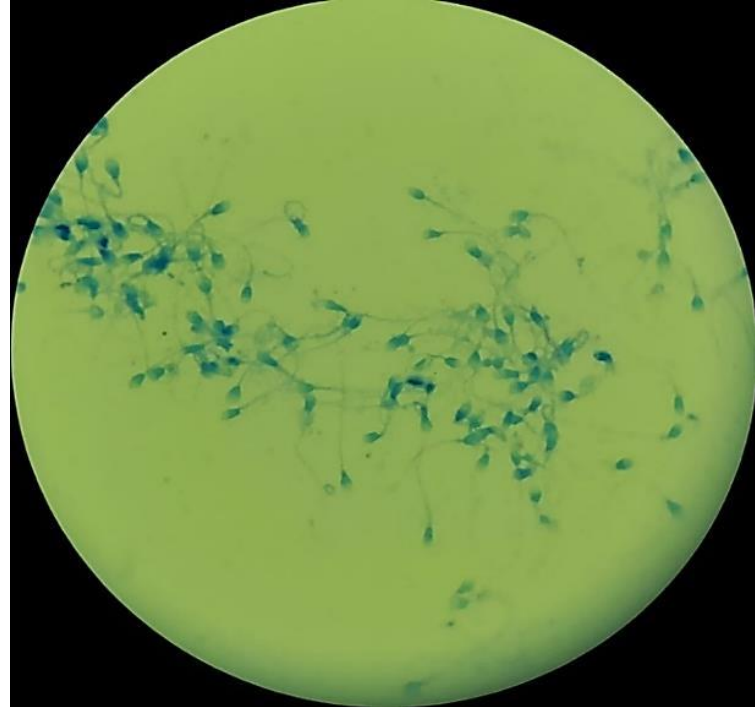
**Şekil 3.3.2.3:** *S.aureus* enfeksiyonlu grupta sperm morfoloji değerlendirilmesi

### **3.3.3. Sperm maturasyonu deneyi**

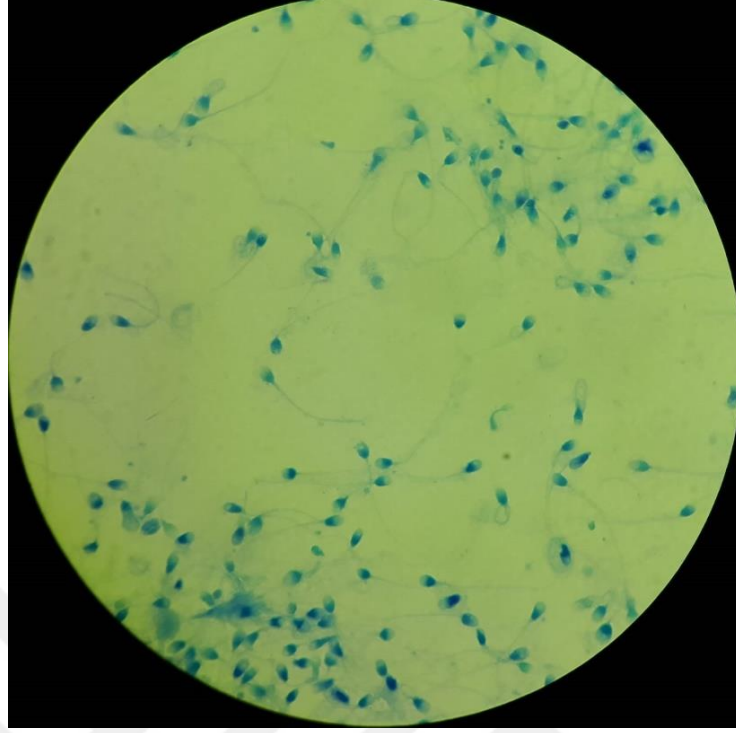
Her hasta için en az iki lam olacak şekilde 20'şer µl'lik örnekle yayma preparat hazırlanmıştır. Örnekler oda sıcaklığında kurutulup bir saat süreyle %10'luk formalin ile şale içerisinde fikse edilmiştir. Fikse edilen preparatlar oda ısısında kurutulup %5'lik anilin blue solüsyonunda (pH:3,5) 5-7 dk süreyle boyanmıştır. Boyanan örnekler distile su ile yıkanmış ve oda ısısında kuruması beklenmiştir. Kuruyan örnekler her bir hasta için 200 sperm saymak suretiyle ışık mikroskopunda x100'de incelenmiş ve boyanmayan spermelerin (matur) yüzdesi bulunmuştur.



**Şekil 3.3.3.1:** Kontrol grubunda sperm maturasyonu



**Şekil 3.3.3.2:** KNS enfeksiyonlu hastada sperm maturasyonu



Şekil 3.3.3.3: *S.aureus* enfeksiyonlu hastada sperm maturasyonu

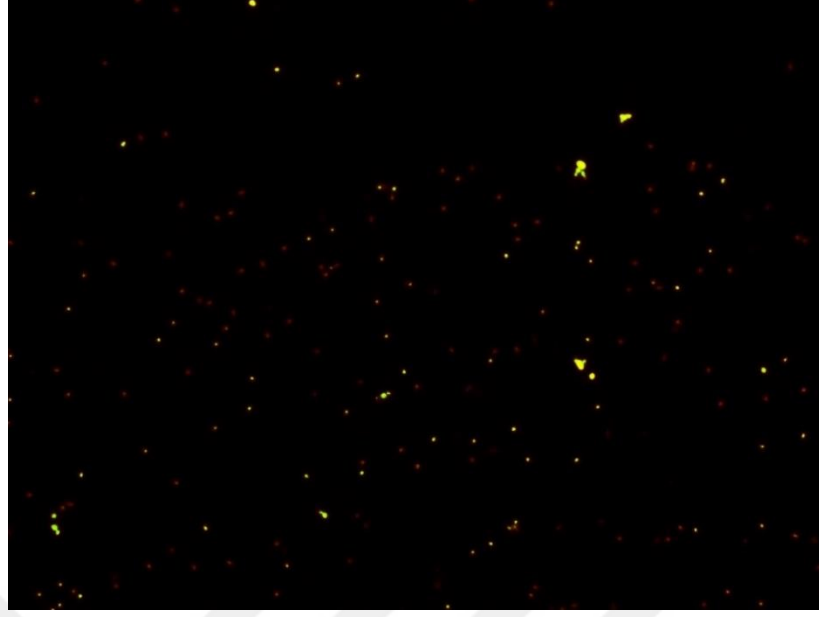
#### 3.3.4. Sperm DNA fragmentasyonu deneyi

Akridin oranj testi sperm DNA fragmentasyonunu araştırmak amacıyla kullanılmaktadır. Araştırmamız için  $-20^{\circ}\text{C}$ 'de saklanan örnekler çözüldükten sonra her bir hasta için 1 ml semen örneği eppendorf içerisinde  $\frac{1}{2}$  oranında Tyrodes solüsyonu ile karıştırılmıştır. 1500 rpm'de 10 dk santrifüjlenmiştir. İşlem iki kez yapılmış ve çökelti 1 ml Tyrodes solüsyonu ile karıştırılıp 20  $\mu\text{l}$  alınarak her hasta için ikişer adet olmak üzere lam üzerine yayılmıştır. Kuruması beklenmiş ve kurutulmuş yayma preparatlar Carnoy solüsyonu ile 30 dk fikse edilmiştir. Daha sonra hazırlanmış akridin oranj boyası damlatılarak karanlıkta 5 dakika boyanmış ve distile suyla yıkanmıştır. Akridin oranjla boyanan preparatlar kuruduktan sonra etidyum bromür ile 5 dk karanlıkta boyanarak distile suyla yıkanmıştır. Preperatlar floresan mikroskobunda akridin oranj için 490 nm excitation filtre, 530nm barrier filtresinde; etidyum bromür için ise 580 nm excitation filtre, 668 nm barrier filtresinde incelenmiştir. Kırmızı-sarı floresan veren spermler DNA fragmentasyonu

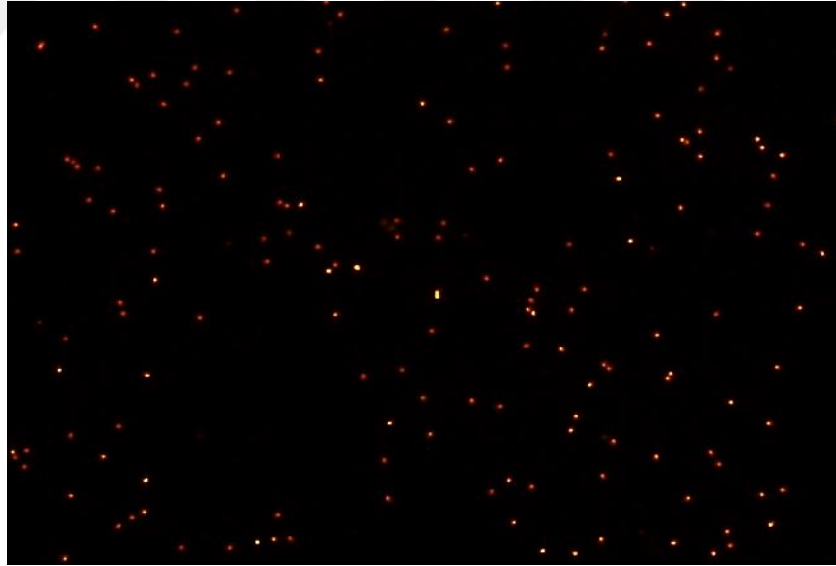
gösterirken, yeşil floresan verenler ise normal olanları göstermektedir. Örnekler floresan mikroskopun uygulaması olan ZEN 2.3 programı kullanılarak x10 ve x40 objektifinde incelenmiş, her bir örnek için en az 200 sperm sayılmış ve sperm DNA fragmentasyon hesaplaması yapılmıştır.



**Şekil 3.3.4.1:** Kontrol grubu sperm DNA fragmentasyonu



**Şekil 3.3.4.2:** KNS enfeksiyonlu grupta sperm DNA fragmentasyonu



**Şekil 3.3.4.3:** *S.aureus* enfeksiyonlu örnekte sperm DNA fragmentasyonu

## 4. BULGULAR

**Tablo 4.1:** Perhiz süresi, likefaksiyon ve lökosit sayısının gruplarda dağılımı ve karşılaştırılması.

		Gruplar		Ki- Kare	P	
		Kontrol (n=18)	Enfeksiyon (n=22)			
Perhiz süresi	3 gün ve daha az	n	3	5	0,23	0,634
		%	16,7%	22,7%		
	4 gün ve daha çok	n	15	17		
		%	83,3%	77,3%		
Likefaksiyon	Normal	n	17	21	0,02	0,884
		%	94,4%	95,5%		
	Normal değil	n	1	1		
		%	5,6%	4,5%		
Lökosit sayısı	Normal	n	18	19	2,65	0,103
		%	100,0%	86,4%		
	Normal değil	n	0	3		
		%	0,0%	13,6%		

Kontrol ve toplam enfeksiyon grubu (KNS+S. aureus) perhiz süresi, likefaksiyon ve lökosit sayısı bakımından karşılaştırılmıştır (K- Kare analizi). Perhiz süresi, viskozite ve likefaksiyon sıklığı bakımından gruplar farklılık göstermemektedir.

**Tablo 4.2:** Perhiz süresi, likefaksiyon ve lökosit sayısının üç grupta dağılımı.

		Gruplar			
		Kontrol (n=18)	KNS (n=18)	<i>S. aureus</i> (n=4)	
Perhiz süresi	3 gün ve daha az	n	3	4	1
		%	16,7%	22,2%	25,0%
	4 gün ve daha çok	n	15	14	3
		%	83,3%	77,8%	75,0%
Likefaksiyon	Normal	n	17	17	4
		%	94,4%	94,4%	100,0%
	Normal değil	n	1	1	
		%	5,6%	5,6%	
Lökosit sayısı	Normal	n	18	15	4
		%	100,0%	83,3%	100,0%
	Normal değil	n		3	
		%		16,7%	

*S. aureus* grubunda vaka sayısı çok az olduğu için Ki-Kare analizi uygulanamamaktadır.

**Tablo 4.3:** Shapiro Wilk analizi sonuçları (değişkenlerin normallik analizi).

	Shapiro-Wilk	p
Yaş	0,957	0,037
Ph	0,628	0,001
Hacim	0,862	0,001
Konsantrasyon	0,852	0,001
Toplam motilite	0,902	0,001
Normal formlar	0,884	0,001
Sperm matürasyonu	0,970	0,036
Sperm DNA fragmantasyonu	0,947	0,049

Tüm nicel değişkenlerin normal dağılıp dağılmadığı Shapiro-Wilk Analizi ile incelenmiş ve normal dağılım göstermedikleri saptanmıştır. Bu nedenle non parametrik analizler uygulanmıştır.

**Tablo 4.4:** Spermiyogram, sperm maturasyonu ve sperm DNA fragmantasyonu değerlerine ilişkin ortalamalar ve karşılaştırmalar.

	Gruplar				z*	p
	Kontrol (n=18)		Enfeksiyon (n=22)			
	Ortalama	Std. Sapma	Ortalama	Std. Sapma		
Yaş	36,00	7,63	35,05	6,75	0,22	0,827
Ph	7,97	,067	7,92	0,10	1,70	0,088
Hacim (ml)	3,78	1,68	3,56	1,30	0,03	0,978
Konsantrasyon (10 <sup>6</sup> /ml)	34,72	14,64	34,14	32,40	1,57	0,118
Toplam Motilite (%)	39,28	9,21	45,00	12,20	1,39	0,165
Normal Formlar (%)	<b>15,89</b>	4,61	2,82	2,95	5,23	<b>0,001</b>
Sperm maturasyonu	44,77	18,46	53,20	21,22	1,47	0,142
Sperm DNA fragmantasyonu	31,33	18,65	<b>49,77</b>	20,68	2,65	<b>0,005</b>

\*: Mann Whitney

Kontrol ve toplam enfeksiyon grubuna ilişkin nicel değişkenler Mann Whitney analizi ile karşılaştırılmıştır. Normal form kontrol grubunda; sperm DNA fragmantasyonu ise enfeksiyon grubunda daha büyük bulunmuştur; istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0,05).

**Tablo 4.5:** Spermiyogram, sperm maturasyonu ve sperm DNA fragmentasyonu değerlerinin üç gruba ilişkin ortalamaları ve karşılaştırmalar.

	Kontrol (n=18)		KNS (n=18)		<i>S. aureus</i> (n=4)		KW**	p
	Ortalama	Std. Sapma	Ortalama	Std. Sapma	Ortalama	Std. Sapma		
Yaş	36,00	7,63	34,61	6,90	37,00	6,63	0,49	0,784
Ph	7,97	0,07	7,92	0,10	7,95	0,10	3,42	0,181
Hacim (ml)	3,78	1,68	3,63	1,35	3,28	1,19	0,53	0,768
Konsantrasyon (10 <sup>6</sup> /ml)	34,72	14,64	32,83	31,07	40,00	42,68	2,49	0,287
Toplam motilite (%)	39,28	9,22	45,00	12,80	45,00	10,71	1,94	0,380
Normal formlar (%)	<b>15,89<sup>S-M</sup></b>	4,61	3,11	3,16	1,50	1,29	27,71	<b>0,001</b>
Sperm maturasyonu	44,78	18,47	53,22	20,95	53,13	25,79	2,22	0,330
Sperm DNA fragmentasyonu	31,33	18,65	<b>49,33<sup>K</sup></b>	19,64	<b>51,75<sup>K</sup></b>	28,30	7,10	<b>0,029</b>

\*\* : Kruskal Wallis Analizi

<sup>S-M</sup>; <sup>K</sup>: Mann Whitney Analizi

Kontrol ve iki enfeksiyon grubuna ilişkin nicel değişkenler Kruskal Wallis Analizi ile karşılaştırılmıştır. Normal form kontrol grubunda; sperm DNA fragmentasyonu ise her iki enfeksiyon grubunda daha büyük bulunmuştur; istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0,05).

**Tablo 4.6:** Değişkenler arasında korelasyon (Spearman's rho analizi).

	Yaş	Ph	Hacim (ml)	Konsantrasyon (10 <sup>6</sup> /ml)	Toplam Motilite (%)	Normal Formlar (%)	Sperm maturasyonu
Ph	r	0,328					
	p	<b>0,039</b>					
Hacim (ml)	r	-0,132	0,286				
	p	0,418	0,073				
Konsantrasyon (10 <sup>6</sup> /ml)	r	-0,077	-0,498	-0,352			
	p	0,638	<b>0,001</b>	<b>0,026</b>			
Toplam Motilite (%)	r	-0,397	-0,793	-0,155	0,406		
	p	<b>0,011</b>	<b>0,001</b>	0,339	<b>0,009</b>		
Normal Formlar (%)	r	0,054	0,301	0,018	0,214	-0,221	
	p	0,742	0,059	0,911	0,185	0,170	
Sperm maturasyonu	r	0,093	0,077	0,150	-0,386	-0,176	-0,139
	p	0,568	0,635	0,357	<b>0,014</b>	0,279	0,392
Sperm DNA fragmentasyonu	r	0,041	-0,130	-0,231	0,092	0,009	-0,181
	p	0,801	0,424	0,152	0,571	0,954	0,264
							0,531

Yaş ile korelasyon: Ph (pozitif yönde),

Toplam motilite (negatif yönde),

Ph ile korelasyon: Konsantrasyon (negatif yönde),

Toplam motilite (negatif yönde)

Hacim ile konsantrasyon (negatif yönde),

Konsantrasyon ile: Toplam motilite (pozitif yönde), sperm maturasyonu (negatif yönde)

#### İstatistiksel Yöntemler:

İstatistiksel analizler SPSS 26.0 ile yapılmıştır. Nicel değişkenlerin normal dağılım kontrolü Shapiro Wilk analizi ile değerlendirilmiştir. Tüm nicel değişkenler normal dağılım göstermediği için iki grup ortalamalarının karşılaştırılmasında Mann Whitney analizi, üç grubun karşılaştırılmasında ise Kruskal Wallis Analizi kullanılmıştır. Değişkenler arasındaki ilişkinin saptanması için ise Spearman's rho Korelasyon uygulanmıştır. Nitel değişkenlerde gruplar Ki-Kare Analizi ile incelenmiştir.

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada seminal stafilokok enfeksiyonlu grup ve normospermik grubun sperm DNA fragmantasyonu ve sperm maturasyonu yönünden karşılaştırılması amaçlanmıştır. Stafilokok enfeksiyonlu grup KNS ve *S. aureus* olmak üzere iki alt gruba ayrılmıştır. Kontrol ve enfeksiyonlu grupta pH'ın yaştan etkilendiği görülüp yaş arttıkça pH'ında arttığı saptanmıştır. Aynı şekilde pH'ın ve yaşın artması, toplam motilitenin azalmasına neden olarak toplam motiliteyi olumsuz yönde etkilemiştir.

Bir araştırma, 30 yaşındaki erkeklerle 50 yaşındaki erkekler arasında yapılan bir karşılaştırmada, sperm hacminde %3 ile %22 arasında bir azalma, sperm motilitesinde %3 ile %37 arasında bir azalma ve normal sperm yüzdesinde %4 ile %18 arasında bir azalma olduğunu belirlemiştir (Kidd vd., 2001). Sperm kalitesi erkeklerde ileri yaştan etkilenerek infertiliteye yol açabilir.(Horta, 2019).

Sonuçlarımıza göre pH artışıyla sperm konsantrasyonunun azaldığı saptanmıştır. Sonuçlarımıza paralel olarak artan baba yaşının, semen hacmi ve sperm sayısı, hareketlilik, morfoloji ve canlılık gibi birçok sperm parametresinde önemli azalmalarla ilişkilendirildiği bilinmektedir. Bu değişkenler ile erkek yaşının ilişkisinin doğrudan nedeni bilinmemekle birlikte, yaşla birlikte değişen birçok potansiyel mekanizma bulunmaktadır. Bunlar arasında üreme yardımcı bezlerin fonksiyonunda azalma, hücresel ve fizyolojik değişiklikler, hücre ve doku hasarını onarma kapasitesinde azalma, germ hücreleri ve androjen seviyelerinde azalma, seminifer tübüllerin daralması, vasküler yetersizlik ve yaşlanmaya bağlı sistemik hastalıklara ilişkin yapısal değişiklikler gibi faktörler yer almaktadır. (Belloc S. vd., 2014; Eskenazi B. vd., 2003; Gunes S. vd., 2016; WHO, 2001). Özellikle, ileri yaşta erkeklerde yardımcı bez salgıları azalır ve su ile protein içeriği genç erkeklerden farklıdır, bu da sperm hareketliliğini etkileyebilir. Spermatogenez yaşlanma ile bozulabilir ve bu da yaşlı erkeklerde anormal sperm morfolojisine neden olabilir (Molina RI vd., 2010).

Likefaksiyon süresi ve semen pH değerlerinin sperm fonksiyonları ile ilişkili olup olmadığı konusunda yeterli çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle, pH ve likefaksiyon süresi ile ana semen parametreleri arasında bir ilişki olup olmadığının değerlendirilmesi hedeflenen bir çalışmada 600 kişinin semen örneği incelenmiştir. Veriler normal ve anormal olarak gruplara ayrılmış ve pH ve likefaksiyon süreleri açısından karşılaştırılmıştır. Örnekler ayrıca semen pH değerine göre asidik (<7.2), normal (7.2-8.0) ve bazik (> 8.0) ve likefaksiyon süresine göre normal sıvılaştırma ( $\leq 30$  dk.) ve yavaş sıvılaştırma (> 30 dk.) şeklinde gruplandırılmış ve daha sonra konsantrasyon, motilite ve morfoloji bozuklukları açısından karşılaştırılmıştır. Toplam 600 semen örneğinden 400'ü anormal, 200'ü normal olarak kabul edilmiştir. Anormal grubun medyan pH ve sıvılaştırma süresi normal gruptan istatistiksel olarak daha yüksek (her ikisi de,  $p < 0,01$ ), semen pH ve likefaksiyon süreleri astenoospermi, teratoospermi ve astenoteratospermi gruplarında anlamlı olarak daha yüksek (tümü için  $p < 0,01$ ), bazik pH (> 8.0) grubunun konsantrasyonu, progresif motilitesi ve morfolojisi hem asidik hem de normal pH gruplarından anlamlı olarak daha düşük (hepsi için  $p < 0,01$ ) bulunmuştur (Demirkol MK. vd., 2021).

Birçok çalışma, erkek yaşı ile sperm sayısı arasında ters bir ilişki bulmuştur (Johnson SL. vd., 2015; Molina RI. vd., 2010; Pino V vd., 2020; Verón GL. vd., 2018). Bu azalmaya rağmen, çeşitli çalışmalar artan yaşla birlikte sperm konsantrasyonunun (toplam sperm sayısı) arttığını bulmuştur (Beguiria R. vd., 2014; Brahem S. vd., 2011; Verón GL. vd., 2018). Bu muhtemelen yaşla birlikte semen hacmindeki eş zamanlı azalmaya bağlıdır (Verón GL. vd., 2018). Bu verilere göre tez çalışmamızın sonucu olan hacim artışıyla birlikte konsantrasyonun azalması durumu ise enfeksiyondan kaynaklanan bir durum olduğunu düşündürmektedir.

Daha önceki çalışmalar sonucunda spermatozoanın *C. trachomatis*'in temel cisimciklerine in vitro maruz bırakılmasının, birkaç saatlik inkübasyon sonrasında sperm ölümüne yol açabileceği gösterilmiştir. Böylelikle, klamidy enfeksiyonu olan erkeklerin menilerinin, ejakülasyondan önce temel cisimciklere maruz kaldıklarında artmış sayıda hareketsiz (ölü) spermatozoa içerebileceği hipotez edilmiştir. Bu hipotezi test etmek için yapılan bir çalışmada infertilite kliniğine başvuran 642 çiftin

erkek bireylerinden semen örnekleri toplanmıştır. Bireylerin hiçbirinde genitoüriner enfeksiyon semptomu olmayıp, 3-5 günlük cinsel perhiz sonrası semen analizi Dünya Sağlık Örgütü (WHO) 1999 yöntemlerine göre yapılmıştır. Semen analizinin yanı sıra *C. trachomatis* DNA'sının ejakülatta varlığını tespit etmek amacıyla PCR yöntemi kullanılmıştır. Toplam 31 semen örneğinin (%4,9) pozitif olduğu görülüp bunların 28'inde tanı ligaz zincir reaksiyonu (LCR) kullanılarak doğrulanmıştır.

Sonuç olarak, bu çalışma, klamidyal DNA pozitif olan erkeklerin ejakülatlarının ölü sperm içerme olasılığının daha yüksek olacağı ve dolayısıyla astenozoospermik olma ihtimalinin daha yüksek olacağı yönündeki ilk hipotezini destekleyememiştir. Klamidya DNA'sı için PCR pozitif olan erkeklerin semen örneklerinde, PCR negatif olanlara kıyasla anlamlı derecede ( $P<.05$ ) daha yüksek ortalama lökosit konsantrasyonu ve daha yüksek ortalama ejakülat hacmi bulunmuştur. Bu hacim artışının enfeksiyonun aksesuar bezleri üzerinde olumsuz etki yaratıp işlev bozukluğuna neden olabileceği ve bu sebeple hacimde artış görülebileceğini düşündürmektedir. Ancak bu konuyla ilgili daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır (Hosseinzadeh, S.,vd 2004).

2018 yılında bakteriyosperminin insan sperm parametreleri, nükleer protaminler, DNA bütünlüğü ve ICSI sonuçları üzerindeki etkilerini değerlendirmek üzere yapılan bir çalışmada, infertilite kliniğine başvuran 84 çift dahil edilmiştir. Erkek bireylerinden alınan semen örnekleri bakteriyolojik olarak taranıp, semen ve sperm parametreleri de WHO kılavuzlarına göre değerlendirilmiştir. DNA bütünlüğü, protamin konsantrasyonu ve protamin eksikliği sırasıyla TUNEL testi, AU-PAGE ve Kromomisin (CMA3) testleri ile belirlenmiştir. Çalışmanın sonucunda, incelenen semen örneklerinin %34,52'sinin bakteri ile enfekte olduğu ortaya çıkmıştır. İzole edilen bakteriler; *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *E. coli*, *Enterococcus faecalis* ve *S. agalactiae* olarak belirlenmiştir. Konsantrasyon, hareketlilik, ilerleyici hareketlilik ve kromatin yoğunlaşması olarak bakıldığında bakteriyosperminin sperm parametreleri üzerinde anlamlı ( $p < .010$ ) negatif etkisi olduğu görülmüştür. Ayrıca, enfekte olmayan hastalarla karşılaştırıldığında enfekte hastalarda düşük P1 ve P2 konsantrasyonları ile yüksek DNA fragmantasyonu fark edilmiş olup istatistiksel

düzyeyde anlamlı bulunmamıştır. Ayrıca enfekte hastalarda dölleme oranının önemli ölçüde azaldığı bulunurken ( $p < 0,05$ ), ICSI tedavisi uygulanan hastalarda bakteriyosperminin sperm kalitesi ve fertilizasyon oranı üzerine anlamlı olumsuz etkisi olduğu da tespit edilmiştir (Zeyad, A. vd., 2018). Bu çalışmanın sonucu ile bizim çalışmamızdaki enfeksiyonlu grupta sperm DNA fragmantasyonu oranının kontrol grubuna oranla anlamlı şekilde yüksek çıkması bulgumuzla örtüşmektedir.

Farklı sperm sayılarına sahip hastalarda sperm morfolojisi ve motilite arasındaki farklılıkları incelemek ve sperm morfolojisinin sperm motilitesi üzerindeki etkisini araştırmak amacıyla yapılan bir çalışmada infertilite kliniğine başvuran 1174 erkeğin sperm analizini toplam sayı, motilite ve morfolojik açıdan değerlendirilmiştir. Toplam sperm sayısına göre, hastalar üç gruba ayrılıp; grup I ( $n=119$ )  $<5 \times 10^6/\text{mL}$ , grup II ( $n=125$ )  $5-15 \times 10^6/\text{mL}$  ve grup III ( $n=930$ )  $\geq 15 \times 10^6/\text{mL}$  toplam sperm sayısına sahiptir. Gruplar motilite, morfoloji ve sperm anormalliklerinin dağılımı açısından karşılaştırılmıştır.

Sonuç olarak toplam sperm sayısının artışıyla beraber toplam motilitede anlamlı bir artış görülmüştür. Morfoloji olarak ise spermin analizinde, normal sperm morfolojisinin %4'ün üzerinde olduğu tespit edilmiş ve bu oran grup II'de %7.1, grup III'te %17.5 iken, grup I'de ise hiçbir normal morfoloji saptanmamıştır (Karabulut ve Tekin, 2013).

Çalışmamızın sonucunda da görülen, kontrol grubunda normal formun enfeksiyonlu gruba oranla daha yüksek olma bulgusunu destekleyen çalışmalar mevcuttur. Genital sistem enfeksiyonu olan hastaların ejakülat örneklerinde sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında semen hacminde, sperm konsantrasyonunda, hareketliliğinde, morfolojisinde ve canlılığındaki değişimlerin incelenmesi amacıyla yapılan bir çalışmada genital sistem enfeksiyonu olan ( $n=39$ ) ve olmayan ( $n=14$ ) iki infertil erkek grubu, sağlıklı kontrollerle ( $n=30$ ) karşılaştırılarak analiz edilmiştir. Genital sistem enfeksiyonu lökositlerin ve patolojik bakteri suşlarının varlığıyla tanımlanmıştır. Genital sistem enfeksiyonu olan hastaların ejakülat örneklerinde sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında semen hacminde, sperm konsantrasyonunda,

hareketliliğinde, morfolojisinde ve canlılığında istatistiksel olarak anlamlı bozulma tespit edilmiştir. *E. coli*, *U. urealyticum* ve *S. aureus* vakalarında sperm üreme potansiyeli üzerinde istatistiksel olarak anlamlı olumsuz etki ortaya çıkmıştır. Özellikle *S. aureus*'un sperm morfolojisini anlamlı düzeyde olumsuz etkilediği görülmüştür (Sanocka-Maciejewska, 2005).

Tez çalışmamız sonucunda seminal stafilokok enfeksiyonlarının fertilité üzerindeki etkileri aydınlatılmaya çalışılmıştır. Stafilokok enfeksiyonlarının sperm maturasyonu üzerinde bir etkisi tespit edilememiştir. Spermin DNA fragmentasyonuna sebep olarak ve sperm parametrelerinde olumsuz etkiler yaratarak infertiliteye katkı sağladığı sonucuna varılmıştır. Ancak bu alanda ve erkek yardımcı üreme bezlerine yaptığı etki ile ilgili daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

## 6. KAYNAKLAR

Abusarah, E. A., Awwad, Z. M., Charvalos, E., & Shehabi, A. A. (2013). Molecular detection of potential sexually transmitted pathogens in semen and urine specimens of infertile and fertile males. *Diagnostic microbiology and infectious disease*, 77(4), 283–286. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2013.05.018>

Adeolu, M., & Gupta, R. S. (2013). Phylogenomics and molecular signatures for the order Neisseriales: proposal for division of the order Neisseriales into the emended family Neisseriaceae and Chromobacteriaceae fam. nov. *Antonie van Leeuwenhoek*, 104(1), 1–24. <https://doi.org/10.1007/s10482-013-9920-6>

Agarwal, A., Mulgund, A., Hamada, A., & Chyatte, M. R. (2015). A unique view on male infertility around the globe. *Reproductive biology and endocrinology : RB&E*, 13, 37. <https://doi.org/10.1186/s12958-015-0032-1>

Agarwal, A., Majzoub, A., Esteves, S. C., Ko, E., Ramasamy, R., & Zini, A. (2016). Clinical utility of sperm DNA fragmentation testing: practice recommendations based on clinical scenarios. *Translational andrology and urology*, 5(6), 935–950. <https://doi.org/10.21037/tau.2016.10.03>

Ahmadi, M. H., Mirsalehian, A., Sadighi Gilani, M. A., Bahador, A., & Afraz, K. (2018). Association of asymptomatic Chlamydia trachomatis infection with male infertility and the effect of antibiotic therapy in improvement of semen quality in infected infertile men. *Andrologia*, 10.1111/and.12944. Advance online publication. <https://doi.org/10.1111/and.12944>

Aitken, R. J., Baker, H. W., & Irvine, D. S. (1995). On the nature of semen quality and infertility. *Human reproduction (Oxford, England)*, 10(2), 248–249. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.humrep.a135922>

Aitken, R. J., & Baker, M. A. (2006). Oxidative stress, sperm survival and fertility control. *Molecular and cellular endocrinology*, 250(1-2), 66–69. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2005.12.026>

Aksoy, E., Aktan, T. M., Duman, S., Dursunoğlu, D., vd. (2009). Farklı semen parametrelerinde ışık mikroskobu düzeyinde spermatozoa morfolojisi ve nükleer kondansasyon değerlendirmesi. *Zeynep Kamil Tıp Bülteni*, 40(3), 111-117. <https://doi.org/10.16948/zktb.51979>

Alcivar, A. A., Hake, L. E., Millette, C. F., Trasler, J. M., & Hecht, N. B. (1989). Mitochondrial gene expression in male germ cells of the mouse. *Developmental biology*, 135(2), 263–271. [https://doi.org/10.1016/0012-1606\(89\)90178-4](https://doi.org/10.1016/0012-1606(89)90178-4)

Alfano, M., Ferrarese, R., Locatelli, I., Ventimiglia, E., Ippolito, S., Gallina, P., Cesana, D., Canducci, F., Pagliardini, L., Viganò, P., Clementi, M., Nebuloni, M., Montorsi, F., & Salonia, A. (2018). Testicular microbiome in azoospermic men—first evidence of the impact of an altered microenvironment. *Human reproduction (Oxford, England)*, 33(7), 1212–1217. <https://doi.org/10.1093/humrep/dey116>

Alvarez Sedó, C., Bilinski, M., Lorenzi, D., Uriondo, H., Noblía, F., Longobucco, V., Lagar, E. V., & Nodar, F. (2017). Effect of sperm DNA fragmentation on embryo development: clinical and biological aspects. *JBRA assisted reproduction*, 21(4), 343–350. <https://doi.org/10.5935/1518-0557.20170061>

Andrade-Rocha F. T. (2003). *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis* in men attending for routine semen analysis. Prevalence, incidence by age and clinical settings, influence on sperm characteristics, relationship with the leukocyte count and clinical value. *Urologia internationalis*, 71(4), 377–381. <https://doi.org/10.1159/000074089>

Arda, M., Minbay, A., Leloğlu, N., Aydın, N., & Akay, Ö. (1992). Özel mikrobiyoloji. Atatürk Üniversitesi Yayınları No:741, Kars Veteriner Fakültesi Yayınları No:1, Ders Kitapları Serisi No:1. Erzurum.

Aydın, C., & Yaytokgil, M. (2021). Prostatit, orşit, epididimite yaklaşım ve yönetim. In Ürolojide temel yaklaşım ve yönetim 16 (s. 153-160). Akademisyen Yayınevi.

Babakhani, S., Eslami, M., Kazemi, M. J., Shirsalimian, M. S., & Rajabi, S. (2022). Association between the presence of Mycoplasma spp. and male infertility. *Journal of obstetrics and gynaecology : the journal of the Institute of Obstetrics and Gynaecology*, 42(5), 1374–1380. <https://doi.org/10.1080/01443615.2021.1980510>

Barrachina, F., Soler-Ventura, A., Oliva, R., & Jodar, M. (2018). Sperm nucleoproteins (histones and protamines). In A. Zini & A. Agarwal (Eds.), *A Clinician's Guide to Sperm DNA and Chromatin Damage* (pp. 31–51). Cham, Switzerland: Springer International Publishing AG.

Barrachina, F., Jodar, M., Delgado-Dueñas, D., Soler-Ventura, A., Estanyol, J. M., Mallofré, C., Balleascà, J. L., & Oliva, R. (2019). Stable-protein Pair Analysis as A Novel Strategy to Identify Proteomic Signatures: Application To Seminal Plasma From Infertile Patients. *Molecular & cellular proteomics : MCP*, 18(Suppl 1), S77–S90. <https://doi.org/10.1074/mcp.RA118.001248>

Baud, D., Pattaroni, C., Vulliemoz, N., Castella, V., Marsland, B. J., & Stojanov, M. (2019). Sperm Microbiota and Its Impact on Semen Parameters. *Frontiers in microbiology*, 10, 234. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00234>

Becker, K., Heilmann, C., & Peters, G. (2014). Coagulase-negative staphylococci. *Clinical microbiology reviews*, 27(4), 870–926. <https://doi.org/10.1128/CMR.00109-13>

Beguiría, R., García, D., Obradors, A., Poisot, F., Vassena, R., & Vernaev, V. (2014). Paternal age and assisted reproductive outcomes in ICSI donor oocytes: is

there an effect of older fathers?. *Human reproduction* (Oxford, England), 29(10), 2114–2122. <https://doi.org/10.1093/humrep/deu189>

Belleannée, C., Calvo, É., Caballero, J., & Sullivan, R. (2013). Epididymosomes convey different repertoires of microRNAs throughout the bovine epididymis. *Biology of reproduction*, 89(2), 30. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.113.110486>

Belloc, S., Hazout, A., Zini, A., Merviel, P., Cabry, R., Chahine, H., Copin, H., & Benkhalifa, M. (2014). How to overcome male infertility after 40: Influence of paternal age on fertility. *Maturitas*, 78(1), 22–29. <https://doi.org/10.1016/j.maturitas.2014.02.011>

Benoit, G., Jardin, A., & Gillot, C. (1993). Reflections and suggestions on the nomenclature of the prostate. *Surgical and radiologic anatomy : SRA*, 15(4), 325–332. <https://doi.org/10.1007/BF01627887>

Bilgehan H.(2009). *Klinik Mikrobiyolojik Tanı*. 5.Baskı, Fakülteler Kitabevi Barış Yayınları, İzmir, s: 495-503.

Brahem, S., Mehdi, M., Elghezal, H., & Saad, A. (2011). The effects of male aging on semen quality, sperm DNA fragmentation and chromosomal abnormalities in an infertile population. *Journal of assisted reproduction and genetics*, 28(5), 425–432. <https://doi.org/10.1007/s10815-011-9537-5>

Breton, S., Ruan, Y. C., Park, Y. J., & Kim, B. (2016). Regulation of epithelial function, differentiation, and remodeling in the epididymis. *Asian journal of andrology*, 18(1), 3–9. <https://doi.org/10.4103/1008-682X.165946>

Calogero, A.E., La Vignera, S., Condorelli, R.A., D'Agata, R., Vicari, E. (2011). Effects of Male Accessory Gland Infection on Sperm Parameters. In: Zini, A., Agarwal, A. (eds) *Sperm Chromatin*. Springer, New York, NY. [https://doi.org/10.1007/978-1-4419-6857-9\\_26](https://doi.org/10.1007/978-1-4419-6857-9_26)

Calogero, A. E., Duca, Y., Condorelli, R. A., & La Vignera, S. (2017). Male accessory gland inflammation, infertility, and sexual dysfunctions: a practical approach to diagnosis and therapy. *Andrology*, 5(6), 1064–1072. <https://doi.org/10.1111/andr.12427>

Camargo, M., Intasqui, P., & Bertolla, R. P. (2018). Understanding the seminal plasma proteome and its role in male fertility. *Basic and clinical andrology*, 28, 6. <https://doi.org/10.1186/s12610-018-0071-5>

Castillo, J., Estanyol, J. M., Ballescà, J. L., & Oliva, R. (2015). Human sperm chromatin epigenetic potential: genomics, proteomics, and male infertility. *Asian journal of andrology*, 17(4), 601–609. <https://doi.org/10.4103/1008-682X.153302>

Castillo, J., Jodar, M., & Oliva, R. (2018). The contribution of human sperm proteins to the development and epigenome of the preimplantation embryo. *Human reproduction update*, 24(5), 535–555. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmy017>

Cavarretta, I., Ferrarese, R., Cazzaniga, W., Saita, D., Lucianò, R., Ceresola, E. R., Locatelli, I., Visconti, L., Lavorgna, G., Briganti, A., Nebuloni, M., Doglioni, C., Clementi, M., Montorsi, F., Canducci, F., & Salonia, A. (2017). The Microbiome of the Prostate Tumor Microenvironment. *European urology*, 72(4), 625–631. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2017.03.029>

Cazzaniga, Walter & Capogrosso, Paolo & Ventimiglia, Eugenio & Boeri, Luca & Pozzi, Edoardo & Chierigo, Francesco & Schifano, Nicolò & Belladelli, Federico & Zuabi, Rani & Abbate, Costantino & Dehò, Federico & Mirone, Vincenzo & Gaboardi, Franco & Montorsi, Francesco & Salonia, Andrea. (2019). MP46-11 PREVALENCE OF POSITIVE SEMEN CULTURES IN INFERTILE MEN WITHOUT LEUKOCYTOSPERMIA: A CROSS SECTIONAL STUDY. *Journal of Urology*. 201. DOI: 10.1097/01.JU.0000556303.64732.06

Chen, H., Luo, T., Chen, T., & Wang, G. (2018). Seminal bacterial composition in patients with obstructive and non-obstructive azoospermia. *Experimental and therapeutic medicine*, 15(3), 2884–2890. <https://doi.org/10.3892/etm.2018.5778>

Chopra, S., Dharmaraja, A., Mehta, P., Colletti, P. M., & Wassef, H. (2015). FDG PET/CT images demonstrating epididymo-orchitis in a patient with HIV, acute kidney injury and known epididymo-orchitis on scrotal ultrasound. *Clinical nuclear medicine*, 40(2), e171–e172. <https://doi.org/10.1097/RLU.0000000000000514>

Cohen, M. S., Hoffman, I. F., Royce, R. A., Kazembe, P., Dyer, J. R., Daly, C. C., Zimba, D., Vernazza, P. L., Maida, M., Fiscus, S. A., & Eron, J. J., Jr (1997). Reduction of concentration of HIV-1 in semen after treatment of urethritis: implications for prevention of sexual transmission of HIV-1. AIDS CAP Malawi Research Group. *Lancet* (London, England), 349(9069), 1868–1873. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(97\)02190-9](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(97)02190-9)

Colaco, S., & Modi, D. (2018). Genetics of the human Y chromosome and its association with male infertility. *Reproductive biology and endocrinology : RB&E*, 16(1), 14. <https://doi.org/10.1186/s12958-018-0330-5>

Condorelli, R. A., Russo, G. I., Calogero, A. E., Morgia, G., & La Vignera, S. (2017). Chronic prostatitis and its detrimental impact on sperm parameters: a systematic review and meta-analysis. *Journal of endocrinological investigation*, 40(11), 1209–1218. <https://doi.org/10.1007/s40618-017-0684-0>

Dacheux, J. L., Belleannée, C., Guyonnet, B., Labas, V., Teixeira-Gomes, A. P., Ecroyd, H., Druart, X., Gatti, J. L., & Dacheux, F. (2012). The contribution of proteomics to understanding epididymal maturation of mammalian spermatozoa. *Systems biology in reproductive medicine*, 58(4), 197–210. <https://doi.org/10.3109/19396368.2012.663233>

Dacheux, J. L., & Dacheux, F. (2013). New insights into epididymal function in relation to sperm maturation. *Reproduction (Cambridge, England)*, 147(2), R27–R42. <https://doi.org/10.1530/REP-13-0420>

Demirkol MK, Resim S, Temiz N, Hamarat MB, Barut O. (2021) Is seminal pH and liquefaction time effective on motility and morphology?. *KSÜ Tıp Fak Der. Temmuz*:16(2):172-177. doi:10.17517/ksutfd.828863

Dessi, D., Margarita, V., Cocco, A. R., Marongiu, A., Fiori, P. L., & Rappelli, P. (2019). *Trichomonas vaginalis* and *Mycoplasma hominis*: new tales of two old friends. *Parasitology*, 146(9), 1150–1155. <https://doi.org/10.1017/S0031182018002135>

Dohle G. R. (2003). Inflammatory-associated obstructions of the male reproductive tract. *Andrologia*, 35(5), 321–324.

Drabovich, A. P., Saraon, P., Jarvi, K., & Diamandis, E. P. (2014). Seminal plasma as a diagnostic fluid for male reproductive system disorders. *Nature reviews. Urology*, 11(5), 278–288. <https://doi.org/10.1038/nrurol.2014.74>

Đuračka, M., Husarčíková, K., Jančov, M., Galovičová, L., Kačániová, M., Lukáč, N., & Tvrda, E. (2021). Staphylococcus-Induced Bacteriospermia In Vitro: Consequences on the Bovine Spermatozoa Quality, Extracellular Calcium and Magnesium Content. *Animals : an open access journal from MDPI*, 11(11), 3309. <https://doi.org/10.3390/ani11113309>

Elder, K., & Dale, B. (2010). *\*In-Vitro Fertilization\**. (T. İrez, Çev.). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri.

Elias, J. F., & Vogel, U. (2019). In. In C. C. Carroll et al. (Eds.), *\*Manual of Clinical Microbiology\** (12. baskı, Cilt 1, ss. 640–655). American Society for Microbiology.

Emokpae, M. A., Uadia, P. O., & Sadiq, N. M. (2009). Contribution of bacterial infection to male infertility in Nigerians. *Online J Health Allied Sci*, 8(1), 6.

Engeler, D. S., Hauri, D., & John, H. (2003). Impact of prostatitis NIH IIIB (prostatodynia) on ejaculate parameters. *European urology*, 44(5), 546–548. [https://doi.org/10.1016/s0302-2838\(03\)00370-1](https://doi.org/10.1016/s0302-2838(03)00370-1)

Eskenazi, B., Wyrobek, A. J., Sloter, E., Kidd, S. A., Moore, L., Young, S., & Moore, D. (2003). The association of age and semen quality in healthy men. *Human reproduction* (Oxford, England), 18(2), 447–454. <https://doi.org/10.1093/humrep/deg107>

Esteves, S. C., & Agarwal, A. (2011). Novel concepts in male infertility. *International braz j urol : official journal of the Brazilian Society of Urology*, 37(1), 5–15. <https://doi.org/10.1590/s1677-55382011000100002>

Evenson, D. P., Darzynkiewicz, Z., & Melamed, M. R. (1980). Relation of mammalian sperm chromatin heterogeneity to fertility. *Science (New York, N.Y.)*, 210(4474), 1131–1133. <https://doi.org/10.1126/science.7444440>

Evgeni, E., Charalabopoulos, K., & Asimakopoulos, B. (2014). Human sperm DNA fragmentation and its correlation with conventional semen parameters. *Journal of reproduction & infertility*, 15(1), 2–14.

Fang, L., Oliver, A., Jayaraman, G. C., & Wong, T. (2010). Trends in age disparities between younger and middle-age adults among reported rates of chlamydia, gonorrhea, and infectious syphilis infections in Canada: findings from 1997 to 2007. *Sexually transmitted diseases*, 37(1), 18–25. <https://doi.org/10.1097/OLQ.0b013e3181b617dc>

Farsimadan, M., & Motamedifar, M. (2020). Bacterial infection of the male reproductive system causing infertility. *Journal of reproductive immunology*, 142, 103183. <https://doi.org/10.1016/j.jri.2020.103183>

Fasciana, T., Capra, G., Lipari, D., Firenze, A., & Giammanco, A. (2022). Sexually Transmitted Diseases: Diagnosis and Control. *International journal of environmental research and public health*, 19(9), 5293. <https://doi.org/10.3390/ijerph19095293>

Fatehi, A. N., Bevers, M. M., Schoevers, E., Roelen, B. A., Colenbrander, B., & Gadella, B. M. (2006). DNA damage in bovine sperm does not block fertilization and early embryonic development but induces apoptosis after the first cleavages. *Journal of andrology*, 27(2), 176–188. <https://doi.org/10.2164/jandrol.04152>

Ford, H. B., & Schust, D. J. (2009). Recurrent pregnancy loss: etiology, diagnosis, and therapy. *Reviews in obstetrics & gynecology*, 2(2), 76–83.

Fraczek, M., Wiland, E., Piasecka, M., Boksa, M., Gaczarzewicz, D., Szumala-Kakol, A., Kolanowski, T., Beutin, L., & Kurpisz, M. (2014). Fertilizing potential of ejaculated human spermatozoa during in vitro semen bacterial infection. *Fertility and sterility*, 102(3), 711–719.e1. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2014.06.002>

Gallegos, G., Ramos, B., Santiso, R., Goyanes, V., Gosálvez, J., & Fernández, J. L. (2008). Sperm DNA fragmentation in infertile men with genitourinary infection by *Chlamydia trachomatis* and *Mycoplasma*. *Fertility and sterility*, 90(2), 328–334. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2007.06.035>

Gdoura, R., Kchaou, W., Ammar-Keskes, L., Chakroun, N., Sellemi, A., Znazen, A., Rebai, T., & Hammami, A. (2008). Assessment of *Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Ureaplasma parvum*, *Mycoplasma hominis*, and *Mycoplasma genitalium* in semen and first void urine specimens of asymptomatic male partners of infertile couples. *Journal of andrology*, 29(2), 198–206. <https://doi.org/10.2164/jandrol.107.003566>

Ghaed'a, J., & Jomaa, Z. K. (2018). The role of *Staphylococcus Haemolyticus* in men infertility. In *Journal of Physics: Conference Series* (Vol. 1003, No. 1, p. 012005). IOP Publishing. doi:012005. 10.1088/1742-6596/1003/1/012005.

Gimenes, F., Medina, F. S., Abreu, A. L., Irie, M. M., Esquiçati, I. B., Malagutti, N., Vasconcellos, V. R., Discacciati, M. G., Bonini, M. G., Maria-Engler, S. S., & Consolaro, M. E. (2014). Sensitive simultaneous detection of seven sexually transmitted agents in semen by multiplex-PCR and of HPV by single PCR. *PloS one*, 9(6), e98862. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0098862>

Gimenes, F., Souza, R. P., Bento, J. C., Teixeira, J. J., Maria-Engler, S. S., Bonini, M. G., & Consolaro, M. E. (2014). Male infertility: a public health issue caused by sexually transmitted pathogens. *Nature reviews. Urology*, 11(12), 672–687. <https://doi.org/10.1038/nrurol.2014.285>

Gnanadurai, R., & Fifer, H. (2020). *Mycoplasma genitalium*: A Review. *Microbiology (Reading, England)*, 166(1), 21–29. <https://doi.org/10.1099/mic.0.000830>

Golshani, M., Taheri, S., Eslami, G., Rahbar, A.S., Fallah, F., & Goudarzi, H. (2006). GENITAL TRACT INFECTION IN ASYMPTOMATIC INFERTILE MEN AND ITS EFFECT ON SEMEN QUALITY. *Iranian Journal of Public Health*, 35, 81-84.

Gözükara, Kerem Han ve Sadık Görür. (2015). "Ürogenital enfeksiyonlar ve erkek infertilitesi (Derleme)." *Androloji Bülteni*: 17.60: 43-48.

Greendale, G. A., Haas, S. T., Holbrook, K., Walsh, B., Schachter, J., & Phillips, R. S. (1993). The relationship of *Chlamydia trachomatis* infection and male infertility. *American journal of public health*, 83(7), 996–1001. <https://doi.org/10.2105/ajph.83.7.996>

Grice, E. A., & Segre, J. A. (2011). The skin microbiome. *Nature reviews. Microbiology*, 9(4), 244–253. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2537>

Griswold M. D. (2016). Spermatogenesis: The Commitment to Meiosis. *Physiological reviews*, 96(1), 1–17. <https://doi.org/10.1152/physrev.00013.2015>

Grzebyk, M., Brzychczy, W. M., Piotrowska, A., Krzyściak, P., Heczko, P. B., & Bulanda, M. (2013). Fenotypowa ocena hydrofobowości powierzchni oraz zdolności do tworzenia biofilmu przez gronkowce koagulazo-ujemne izolowane z zakażeń od noworodków z bardzo małą masą urodzeniową [Phenotypic evaluation of hydrophobicity and the ability to produce biofilm in coagulase-negative staphylococci isolated from infected very-low-birthweight newborns]. *Medycyna doświadczalna i mikrobiologia*, 65(3), 149–159.

Gunes, S., Sevgili, E., & Aşci, R., (2013). Sperm DNA Hasarı Mekanizmaları ve Değerlendirme Yöntemleri. *Türkiye Klinikleri Uroloji Dergisi*, vol.4, no.3, 107-114.

Gunes, S., Hekim, G. N., Arslan, M. A., & Asci, R. (2016). Effects of aging on the male reproductive system. *Journal of assisted reproduction and genetics*, 33(4), 441–454. <https://doi.org/10.1007/s10815-016-0663-y>

Gupta, S., & Prabha, V. (2012). Human Sperm Interaction with *Staphylococcus aureus*: A Molecular Approach. *Journal of pathogens*, 2012, 816536. <https://doi.org/10.1155/2012/816536>

Hammadeh, M. E., Al Hasani, S., Rosenbaum, P., Schmidt, W., & Fischer Hammadeh, C. (2008). Reactive oxygen species, total antioxidant concentration of seminal plasma and their effect on sperm parameters and outcome of IVF/ICSI patients. *Archives of gynecology and obstetrics*, 277(6), 515–526. <https://doi.org/10.1007/s00404-007-0507-1>

Heilmann, C., Ziebuhr, W., & Becker, K. (2019). Are coagulase-negative staphylococci virulent?. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 25(9), 1071–1080. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2018.11.012>

Henkel, R., Müller, C., Miska, W., Gips, H., & Schill, W. B. (1993). Determination of the acrosome reaction in human spermatozoa is predictive of fertilization in vitro.

Human reproduction (Oxford, England), 8(12), 2128–2132.  
<https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.humrep.a137994>

Henkel, R., Ludwig, M., Schuppe, H. C., Diemer, T., Schill, W. B., & Weidner, W. (2006). Chronic pelvic pain syndrome/chronic prostatitis affect the acrosome reaction in human spermatozoa. *World journal of urology*, 24(1), 39–44.  
<https://doi.org/10.1007/s00345-005-0038-y>

Hernández-Silva, G., & Chirinos, M. (2019). Proteins from male and female reproductive tracts involved in sperm function regulation. *Zygote* (Cambridge, England), 27(1), 5–16. <https://doi.org/10.1017/S096719941800062X>

Hook, E. W. 3rd, & Handsfield, H. H. (2008). In: Holmes, K. K., ve diğerleri (Eds.). *\*Cinsel Yolla Bulaşan Hastalıklar\** (4. baskı, ss. 627–645). McGraw-Hill Education.

Hooper, R. R., Reynolds, G. H., Jones, O. G., Zaidi, A., Wiesner, P. J., Latimer, K. P., Lester, A., Campbell, A. F., Harrison, W. O., Karney, W. W., & Holmes, K. K. (1978). Cohort study of venereal disease. I: the risk of gonorrhoea transmission from infected women to men. *American journal of epidemiology*, 108(2), 136–144.  
<https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a112597>

Horner, P., Donders, G., Cusini, M., Gomberg, M., Jensen, J. S., & Unemo, M. (2018). Should we be testing for urogenital *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma parvum* and *Ureaplasma urealyticum* in men and women? - a position statement from the European STI Guidelines Editorial Board. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology : JEADV*, 32(11), 1845–1851.  
<https://doi.org/10.1111/jdv.15146>

Horta, F., Vollenhoven, B., Healey, M., Busija, L., Catt, S., & Temple-Smith, P. (2019). Male ageing is negatively associated with the chance of live birth in IVF/ICSI cycles for idiopathic infertility. *Human reproduction* (Oxford), 34(12), 2523–2532. <https://doi.org/10.1093/humrep/dez223>

Hosseinzadeh, S., Eley, A., & Pacey, A. A. (2004). Semen quality of men with asymptomatic chlamydial infection. *Journal of andrology*, 25(1), 104–109. <https://doi.org/10.1002/j.1939-4640.2004.tb02764.x>

Hou, D., Zhou, X., Zhong, X., Settles, M. L., Herring, J., Wang, L., Abdo, Z., Forney, L. J., & Xu, C. (2013). Microbiota of the seminal fluid from healthy and infertile men. *Fertility and sterility*, 100(5), 1261–1269. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2013.07.1991>

Ivanov, I. B., Kuzmin, M. D., & Gritsenko, V. A. (2009). Microflora of the seminal fluid of healthy men and men suffering from chronic prostatitis syndrome. *International journal of andrology*, 32(5), 462–467. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2605.2008.00878.x>

Jana, K., Jana, N., De, D. K., & Guha, S. K. (2010). Ethanol induces mouse spermatogenic cell apoptosis in vivo through over-expression of Fas/Fas-L, p53, and caspase-3 along with cytochrome c translocation and glutathione depletion. *Molecular reproduction and development*, 77(9), 820–833. <https://doi.org/10.1002/mrd.21227>

Javurek, A. B., Spollen, W. G., Ali, A. M., Johnson, S. A., Lubahn, D. B., Bivens, N. J., Bromert, K. H., Ellersieck, M. R., Givan, S. A., & Rosenfeld, C. S. (2016). Discovery of a Novel Seminal Fluid Microbiome and Influence of Estrogen Receptor Alpha Genetic Status. *Scientific reports*, 6, 23027. <https://doi.org/10.1038/srep23027>

Jensen, J. S., Cusini, M., Gomberg, M., Moi, H., Wilson, J., & Unemo, M. (2022). 2021 European guideline on the management of *Mycoplasma genitalium* infections. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology : JEADV*, 36(5), 641–650. <https://doi.org/10.1111/jdv.17972>

Jodar, M., Sendler, E., & Krawetz, S. A. (2016). The protein and transcript profiles of human semen. *Cell and tissue research*, 363(1), 85–96. <https://doi.org/10.1007/s00441-015-2237-1>

Jodar, M., Soler-Ventura, A., Oliva, R., & Molecular Biology of Reproduction and Development Research Group (2017). Semen proteomics and male infertility. *Journal of proteomics*, 162, 125–134. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2016.08.018>

Johnson, S. L., Dunleavy, J., Gemmell, N. J., & Nakagawa, S. (2015). Consistent age-dependent declines in human semen quality: a systematic review and meta-analysis. *Ageing research reviews*, 19, 22–33. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2014.10.007>

Junqueira, I. C., Carneiro, J., & Kalley, R. O. (1998). *\*A Lange Medical Book\** (Prof. Dr. Yener Aytekin, Ed.). Barış Kitabevi.

Karabulut, A. ve Tekin, A. (2013). Spermatozoanın morfolojisi ve hareketliliğindeki değişiklikler: toplam sperm sayısı ile ilişkisi. *Pamukkale Tıp Dergisi* ( 1 ), 1-4.

Karavolos S. (2021). Sperm DNA Fragmentation. *Seminars in reproductive medicine*, 39(5-06), 194–199. <https://doi.org/10.1055/s-0041-1736261>

KELEŞ, İbrahim. (2017). "Erkek Ürogenital Hastalıkları ve Mikrobiyota." *Biyoteknoloji ve Stratejik Sağlık Araştırmaları Dergisi* 1: 86-94.

Kermes, K., Punab, M., Lõivukene, K., & Mändar, R. (2003). Anaerobic seminal fluid micro-flora in chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome patients. *Anaerobe*, 9(3), 117–123. [https://doi.org/10.1016/S1075-9964\(03\)00085-4](https://doi.org/10.1016/S1075-9964(03)00085-4)

Khadem, N., Poorhoseyni, A., Jalali, M., Akbary, A., & Heydari, S. T. (2014). Sperm DNA fragmentation in couples with unexplained recurrent spontaneous abortions. *Andrologia*, 46(2), 126–130. <https://doi.org/10.1111/and.12056>

Kidd, S. A., Eskenazi, B., & Wyrobek, A. J. (2001). Effects of male age on semen quality and fertility: a review of the literature. *Fertility and sterility*, 75(2), 237–248. [https://doi.org/10.1016/s0015-0282\(00\)01679-4](https://doi.org/10.1016/s0015-0282(00)01679-4)

Knox, C. L., Allan, J. A., Allan, J. M., Edirisinghe, W. R., Stenzel, D., Lawrence, F. A., Purdie, D. M., & Timms, P. (2003). *Ureaplasma parvum* and *Ureaplasma urealyticum* are detected in semen after washing before assisted reproductive technology procedures. *Fertility and sterility*, 80(4), 921–929. [https://doi.org/10.1016/s0015-0282\(03\)01125-7](https://doi.org/10.1016/s0015-0282(03)01125-7)

Kosecka-Strojek M, Buda A, Miğdzobrodzki J. Staphylococcal ecology and epidemiology. In: Savini V, editor. *Pet-to-man travelling staphylococci. A world in progress*. Cambridge (USA): Academic Press; 2018. p. 11–24. Doi: 10.1016/B978-0-12-813547-1.00002-9

Krause W. (2008). Male accessory gland infection. *Andrologia*, 40(2), 113–116. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0272.2007.00822.x>

Krieger, J. N., Nyberg, L., Jr, & Nickel, J. C. (1999). NIH consensus definition and classification of prostatitis. *JAMA*, 282(3), 236–237. <https://doi.org/10.1001/jama.282.3.236>

Kullisaar, T., Türk, S., Kilk, K., Ausmees, K., Punab, M., & Mändar, R. (2013). Increased levels of hydrogen peroxide and nitric oxide in male partners of infertile couples. *Andrology*, 1(6), 850–858. <https://doi.org/10.1111/j.2047-2927.2013.00123.x>

Küçük N. (2018). Sperm DNA and detection of DNA fragmentations in sperm. *Turkish journal of urology*, 44(1), 1–5. <https://doi.org/10.5152/tud.2018.49321>

Laberge, R. M., & Boissonneault, G. (2005). On the nature and origin of DNA strand breaks in elongating spermatids. *Biology of reproduction*, 73(2), 289–296. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.104.036939>

Lee, J., Richburg, J. H., Shipp, E. B., Meistrich, M. L., & Boekelheide, K. (1999). The Fas system, a regulator of testicular germ cell apoptosis, is differentially up-regulated in Sertoli cell versus germ cell injury of the testis. *Endocrinology*, 140(2), 852–858. <https://doi.org/10.1210/endo.140.2.6479>

Leslie, S. W., Soon-Sutton, T. L., & Khan, M. A. B. (2023). Male Infertility. In *StatPearls*. StatPearls Publishing.

Li, S., Guo, Y., Zhao, C., Chen, H., Hu, B., Chu, Y., Zhang, Z., Hu, Y., Liu, Z., Du, Y., Gui, Q., Ji, P., Zeng, J., Cao, B., Fu, Q., Zhang, R., Wang, Z., Zhuo, C., Feng, X., Jia, W., ... Wang, H. (2016). In vitro activities of tedizolid compared with other antibiotics against Gram-positive pathogens associated with hospital-acquired pneumonia, skin and soft tissue infection and bloodstream infection collected from 26 hospitals in China. *Journal of medical microbiology*, 65(10), 1215–1224. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.000347>

Liu, H. C., Tsai, T. C., Chang, P. Y., & Shih, B. F. (1994). Varicella orchitis: report of two cases and review of the literature. *The Pediatric infectious disease journal*, 13(8), 748–750.

Liyun Shi, Huanhuan Wang and Zhe Lu (2016). Staphylococcal Infection and Infertility, *Genital Infections and Infertility*, Atef M. Darwish, IntechOpen, DOI: 10.5772/62663.

Lozano-Hernández, Ricardo, Velasco Judith, and Rodríguez Maythe. (2017). "Impact of Coagulase-Negative Staphylococci and Other Germs on Sperm Forms." *International Journal of Medical Research & Health Sciences* 6.8: 6(8), 92-97.

Mändar R. (2013). Microbiota of male genital tract: impact on the health of man and his partner. *Pharmacological research*, 69(1), 32–41. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2012.10.019>

Mändar, R., Punab, M., Korrovits, P., Türk, S., Ausmees, K., Lapp, E., Preem, J. K., Oopkaup, K., Salumets, A., & Truu, J. (2017). Seminal microbiome in men with and without prostatitis. *International journal of urology : official journal of the Japanese Urological Association*, 24(3), 211–216. <https://doi.org/10.1111/iju.13286>

Molina, R. I., Martini, A. C., Tissera, A., Olmedo, J., Senestrari, D., de Cuneo, M. F., & Ruiz, R. D. (2010). Semen quality and aging: analysis of 9.168 samples in Cordoba. Argentina. *Archivos espanoles de urologia*, 63(3), 214–222.

Monteiro, C., Marques, P. I., Cavadas, B., Damião, I., Almeida, V., Barros, N., Barros, A., Carvalho, F., Gomes, S., & Seixas, S. (2018). Characterization of microbiota in male infertility cases uncovers differences in seminal hyperviscosity and oligoasthenoteratozoospermia possibly correlated with increased prevalence of infectious bacteria. *American journal of reproductive immunology (New York, N.Y. : 1989)*, 79(6), e12838. <https://doi.org/10.1111/aji.12838>

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. *Journal of assisted reproduction and genetics*, 26(1), 47–56. <https://doi.org/10.1007/s10815-008-9283-5>

Morse S. A. (1979). *Neisseria gonorrhoeae: physiology and metabolism. Sexually transmitted diseases*, 6(1), 28–37. <https://doi.org/10.1097/00007435-197901000-00009>

Nabi, A., Khalili, M. A., Halvaei, I., Ghasemzadeh, J., & Zare, E. (2013). Seminal bacterial contaminations: Probable factor in unexplained recurrent pregnancy loss. *Iranian journal of reproductive medicine*, 11(11), 925–932.

Nelson M. F. (1980). Wrongful life: impaired infant's cause of action recognized--*Curlender v. Bio-Science Laboratories*. *Brigham Young University law review*, 1980(3), 676–683.

Nickel, J. C., Alexander, R. B., Schaeffer, A. J., Landis, J. R., Knauss, J. S., Propert, K. J., & Chronic Prostatitis Collaborative Research Network Study Group (2003). Leukocytes and bacteria in men with chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome compared to asymptomatic controls. *The Journal of urology*, 170(3), 818–822. <https://doi.org/10.1097/01.ju.0000082252.49374.e9>

Ochsendorf F. R. (2008). Sexually transmitted infections: impact on male fertility. *Andrologia*, 40(2), 72–75. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0272.2007.00825.x>

Ohashi, K., Saji, F., Kato, M., Tsutsui, T., Tomiyama, T., & Tanizawa, O. (1995). Acrobeads test: a new diagnostic test for assessment of the fertilizing capacity of human spermatozoa. *Fertility and sterility*, 63(3), 625–630.

Olibe, A. O., Udealor, P. C., Ugwu, E. O., Iyoke, C. A., Ugwu, A. O., Eleje, G. U., Umeh, U. A., Iloghalu, E. I., Agu, P. U., Obioha, K. C., & Onwuka, C. I. (2023). Antichlamydia antibodies and sperm quality among male partners of infertile couples in Nigeria. *Nigerian journal of clinical practice*, 26(3), 294–299. [https://doi.org/10.4103/njcp.njcp\\_128\\_22](https://doi.org/10.4103/njcp.njcp_128_22)

Orgebin-Crist M. C. (1967). Sperm maturation in rabbit epididymis. *Nature*, 216(5117), 816–818. <https://doi.org/10.1038/216816a0>

Orgebin-Crist M. C. (1969). Studies on the function of the epididymis. *Biology of reproduction*, 1, 155–175. [https://doi.org/10.1095/biolreprod1.supplement\\_1.155](https://doi.org/10.1095/biolreprod1.supplement_1.155)

Paavonen, J., & Eggert-Kruse, W. (1999). Chlamydia trachomatis: impact on human reproduction. *Human reproduction update*, 5(5), 433–447. <https://doi.org/10.1093/humupd/5.5.433>

Peerayeh, S. N., Yazdi, R. S., & Zeighami, H. (2008). Association of Ureaplasma urealyticum infection with varicocele-related infertility. *Journal of infection in developing countries*, 2(2), 116–119.

Pellati, D., Mylonakis, I., Bertoloni, G., Fiore, C., Andrisani, A., Ambrosini, G., & Armanini, D. (2008). Genital tract infections and infertility. *European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology*, 140(1), 3–11. <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2008.03.009>

Phé, V., & Rouprêt, M. (2010). Prostatitis y epididimitis. *EMC-Tratado de Medicina*, 14(4), 1-10.

Pino, V., Sanz, A., Valdés, N., Crosby, J., & Mackenna, A. (2020). The effects of aging on semen parameters and sperm DNA fragmentation. *JBRA assisted reproduction*, 24(1), 82–86. <https://doi.org/10.5935/1518-0557.20190058>

Potts, R. J., Notarianni, L. J., & Jefferies, T. M. (2000). Seminal plasma reduces exogenous oxidative damage to human sperm, determined by the measurement of DNA strand breaks and lipid peroxidation. *Mutation research*, 447(2), 249–256. [https://doi.org/10.1016/s0027-5107\(99\)00215-8](https://doi.org/10.1016/s0027-5107(99)00215-8)

Prabha, V., Gupta, T., Kaur, S., Kaur, N., Kala, S., & Singh, A. (2009). Isolation of a spermatozoal immobilization factor from *Staphylococcus aureus* filtrates. *Canadian journal of microbiology*, 55(7), 874–878. <https://doi.org/10.1139/w09-032>

Prabha, V., Aanam, T. D., & Kaur, S. (2011). Bacteriological study of the cervix of females suffering from unexplained infertility. *Am J Biomed Sci*, 3(2), 84-89.

Prabha, V., Chaudhary, N., & Kaur, S. (2011). Molecular mimicry between spermatozoa and bacteria. *The Journal of urology*, 186(6), 2442–2447. <https://doi.org/10.1016/j.juro.2011.07.084>

Price, M. A., Zimba, D., Hoffman, I. F., Kaydos-Daniels, S. C., Miller, W. C., Martinson, F., Chilongozi, D., Kip, E., Msowoya, E., Hobbs, M. M., Kazembe, P., & Cohen, M. S. (2003). Addition of treatment for trichomoniasis to syndromic management of urethritis in Malawi: a randomized clinical trial. *Sexually transmitted diseases*, 30(6), 516–522. <https://doi.org/10.1097/00007435-200306000-00009>

Punab, M., Kullisaar, T., & Mändar, R. (2013). Male infertility workup needs additional testing of expressed prostatic secretion and/or post-massage urine. *PloS one*, 8(12), e82776. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0082776>

Ramsey, K. H., Schneider, H., Cross, A. S., Boslego, J. W., Hoover, D. L., Staley, T. L., Kuschner, R. A., & Deal, C. D. (1995). Inflammatory cytokines produced in response to experimental human gonorrhea. *The Journal of infectious diseases*, 172(1), 186–191. <https://doi.org/10.1093/infdis/172.1.186>

Reichart, M., Levi, H., Kahane, I., & Bartoov, B. (2001). Dual energy metabolism-dependent effect of *Ureaplasma urealyticum* infection on sperm activity. *Journal of andrology*, 22(3), 404–412.

Reilly, J. N., McLaughlin, E. A., Stanger, S. J., Anderson, A. L., Hutcheon, K., Church, K., Mihalas, B. P., Tyagi, S., Holt, J. E., Eamens, A. L., & Nixon, B. (2016). Characterisation of mouse epididymosomes reveals a complex profile of microRNAs and a potential mechanism for modification of the sperm epigenome. *Scientific reports*, 6, 31794. <https://doi.org/10.1038/srep31794>

Ronquist, G. K., Larsson, A., Ronquist, G., Isaksson, A., Hreinsson, J., Carlsson, L., & Stavreus-Evers, A. (2011). Prostatosomal DNA characterization and transfer into human sperm. *Molecular reproduction and development*, 78(7), 467–476. <https://doi.org/10.1002/mrd.21327>

Rusz, A., Pilatz, A., Wagenlehner, F., Linn, T., Diemer, T., Schuppe, H. C., Lohmeyer, J., Hossain, H., & Weidner, W. (2012). Influence of urogenital infections and inflammation on semen quality and male fertility. *World journal of urology*, 30(1), 23–30. <https://doi.org/10.1007/s00345-011-0726-8>

Sakkas, D., Seli, E., Bizzaro, D., Tarozzi, N., & Manicardi, G. C. (2003). Abnormal spermatozoa in the ejaculate: abortive apoptosis and faulty nuclear remodelling

during spermatogenesis. *Reproductive biomedicine online*, 7(4), 428–432. [https://doi.org/10.1016/s1472-6483\(10\)61886-x](https://doi.org/10.1016/s1472-6483(10)61886-x)

Sakkas, D., & Alvarez, J. G. (2010). Sperm DNA fragmentation: mechanisms of origin, impact on reproductive outcome, and analysis. *Fertility and sterility*, 93(4), 1027–1036. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2009.10.046>

Samanta, L., Parida, R., Dias, TR ve Agarwal, A. (2018). Esrarengiz seminal plazma: boşalmadan döllenmeye kadar proteomik bir anlayış. *Üreme biyolojisi ve endokrinoloji: RB&E* , 16 (1), 41. <https://doi.org/10.1186/s12958-018-0358-6>

Sanocka-Maciejewska, D., Ciupińska, M., & Kurpisz, M. (2005). Bacterial infection and semen quality. *Journal of reproductive immunology*, 67(1-2), 51–56. <https://doi.org/10.1016/j.jri.2005.06.003>

Sasikumar, S., Dakshayani, D., & Sarasa, D. (2013). An investigation of DNA fragmentation and morphological changes caused by bacteria and fungi in human spermatozoa. *Int J Curr Microbiol App Sci*, 2(4), 84-96.

Schoysman, R. J., & Bedford, J. M. (1986). The role of the human epididymis in sperm maturation and sperm storage as reflected in the consequences of epididymovasostomy. *Fertility and sterility*, 46(2), 293–299. [https://doi.org/10.1016/s0015-0282\(16\)49528-2](https://doi.org/10.1016/s0015-0282(16)49528-2)

Schuppe, H. C., Meinhardt, A., Allam, J. P., Bergmann, M., Weidner, W., & Haidl, G. (2008). Chronic orchitis: a neglected cause of male infertility?. *Andrologia*, 40(2), 84–91. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0272.2008.00837.x>

Segnini, A., Camejo, M. I., & Proverbio, F. (2003). Chlamydia trachomatis and sperm lipid peroxidation in infertile men. *Asian journal of andrology*, 5(1), 47–49.

Seli, E., & Sakkas, D. (2005). Spermatozoal nuclear determinants of reproductive outcome: implications for ART. *Human reproduction update*, 11(4), 337–349. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmi011>

Sell, J., Nasir, M., & Courchesne, C. (2021). Urethritis: Rapid Evidence Review. *American family physician*, 103(9), 553–558.

Shamsi, M.B., Kumar, R., Bhatt, A., Bamezai, R.N., Kumar, R., Gupta, N.P., Das, T.K., Dada, R., (2008). Mitochondrial DNA Mutations in etiopathogenesis of male infertility. *Indian Journal of Urology*, 24, 150–154.

Sharma, S., Hanukoglu, A., & Hanukoglu, I. (2018). Localization of epithelial sodium channel (ENaC) and CFTR in the germinal epithelium of the testis, Sertoli cells, and spermatozoa. *Journal of molecular histology*, 49(2), 195–208. <https://doi.org/10.1007/s10735-018-9759-2>

Silva, C. A., Cocuzza, M., Carvalho, J. F., & Bonfá, E. (2014). Diagnosis and classification of autoimmune orchitis. *Autoimmunity reviews*, 13(4-5), 431–434. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2014.01.024>

Sonnenberg, P., Clifton, S., Beddows, S., Field, N., Soldan, K., Tanton, C., Mercer, C. H., da Silva, F. C., Alexander, S., Copas, A. J., Phelps, A., Erens, B., Prah, P., Macdowall, W., Wellings, K., Ison, C. A., & Johnson, A. M. (2013). Prevalence, risk factors, and uptake of interventions for sexually transmitted infections in Britain: findings from the National Surveys of Sexual Attitudes and Lifestyles (Natsal). *Lancet (London, England)*, 382(9907), 1795–1806. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)61947-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)61947-9)

Stephens, A. J., Aubuchon, M., & Schust, D. J. (2011). Antichlamydial antibodies, human fertility, and pregnancy wastage. *Infectious diseases in obstetrics and gynecology*, 2011, 525182. <https://doi.org/10.1155/2011/525182>

Stuppia, L., Franzago, M., Ballerini, P., Gatta, V., & Antonucci, I. (2015). Epigenetics and male reproduction: the consequences of paternal lifestyle on fertility, embryo development, and children lifetime health. *Clinical epigenetics*, 7, 120. <https://doi.org/10.1186/s13148-015-0155-4>

Sullivan, R., & Miesusset, R. (2016). The human epididymis: its function in sperm maturation. *Human reproduction update*, 22(5), 574–587. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmw015>

Sullivan, R., Légaré, C., Lamontagne-Proulx, J., Breton, S., & Soulet, D. (2019). Revisiting structure/functions of the human epididymis. *Andrology*, 7(5), 748–757. <https://doi.org/10.1111/andr.12633>

Szczuka, E., Krzywińska, S., & Kaznowski, A. (2016). Clonality, virulence and the occurrence of genes encoding antibiotic resistance among *Staphylococcus warneri* isolates from bloodstream infections. *Journal of medical microbiology*, 65(8), 828–836. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.000287>

Taylor, T. A., & Unakal, C. G. (2023). *Staphylococcus aureus* Infection. In StatPearls. StatPearls Publishing.

Tejada, R. I., Mitchell, J. C., Norman, A., Marik, J. J., & Friedman, S. (1984). A test for the practical evaluation of male fertility by acridine orange (AO) fluorescence. *Fertility and sterility*, 42(1), 87–91. [https://doi.org/10.1016/s0015-0282\(16\)47963-x](https://doi.org/10.1016/s0015-0282(16)47963-x)

Tesarik, J., Mendoza, C., & Greco, E. (2002). Paternal effects acting during the first cell cycle of human preimplantation development after ICSI. *Human reproduction* (Oxford, England), 17(1), 184–189. <https://doi.org/10.1093/humrep/17.1.184>

Tong, S. Y., Davis, J. S., Eichenberger, E., Holland, T. L., & Fowler, V. G., Jr (2015). *Staphylococcus aureus* infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. *Clinical microbiology reviews*, 28(3), 603–661. <https://doi.org/10.1128/CMR.00134-14>

Tønjum, T., & van Putten, J. (2016). In: Cohen, J., Powderly, W. G., & Opal, S. M. (Eds.). \*Infectious Diseases\* (4th ed., ss. 1553-1564). Elsevier.

Turek, P. (2022). Erkek üreme fizyolojisi. In Campbell Walsh Üroloji (11. Baskı, ss. 516-537). Elsevier.

Turner T. T. (1995). On the epididymis and its role in the development of the fertile ejaculate. *Journal of andrology*, 16(4), 292–298.

Verón, G. L., Tissera, A. D., Bello, R., Beltramone, F., Estofan, G., Molina, R. I., & Vazquez-Levin, M. H. (2018). Impact of age, clinical conditions, and lifestyle on routine semen parameters and sperm kinematics. *Fertility and sterility*, 110(1), 68–75.e4. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2018.03.016>

Weidner, W., Schiefer, H. G., & Garbe, C. (1987). Acute nongonococcal epididymitis. Aetiological and therapeutic aspects. *Drugs*, 34 Suppl 1, 111–117. <https://doi.org/10.2165/00003495-198700341-00024>

Weidner, W., Garbe, C., Weissbach, L., Harbrecht, J., Kleinschmidt, K., Schiefer, H. G., & Friedrich, H. J. (1990). Initiale Therapie der akuten einseitigen Epididymitis mit Ofloxacin. II. Andrologische Befunde [Initial therapy of acute unilateral epididymitis using ofloxacin. II. Andrological findings]. *Der Urologe. Ausg. A*, 29(5), 277–280.

Weng, S. L., Chiu, C. M., Lin, F. M., Huang, W. C., Liang, C., Yang, T., Yang, T. L., Liu, C. Y., Wu, W. Y., Chang, Y. A., Chang, T. H., & Huang, H. D. (2014). Bacterial communities in semen from men of infertile couples: metagenomic sequencing reveals relationships of seminal microbiota to semen quality. *PloS one*, 9(10), e110152. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0110152>

Workowski, K. A., & Berman, S. M. (2011). Centers for Disease Control and Prevention Sexually Transmitted Disease Treatment Guidelines. *Clinical infectious*

diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America, 53 Suppl 3, S59–S63. <https://doi.org/10.1093/cid/cir694>

World Health Organization . WHO (2001). Men, ageing and health : achieving health across the life span. Geneva: World Health Organization; 2001.

World Health Organization. WHO (2010). Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen. World Health Organization; 2010.

Yu, W., Kim, H. K., Rauch, S., Schneewind, O., & Missiakas, D. (2017). Pathogenic conversion of coagulase-negative staphylococci. *Microbes and infection*, 19(2), 101–109. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2016.12.002>

Zeyad, A., Hamad, M., Amor, H., & Hammadeh, M. E. (2018). Relationships between bacteriospermia, DNA integrity, nuclear protamine alteration, sperm quality and ICSI outcome. *Reproductive biology*, 18(1), 115–121. <https://doi.org/10.1016/j.repbio.2018.01.010>

Zhou, X., Liu, F., Zhai, S., (2007). Effect of L-carnitine and/or L-acetyl-carnitine in nutrition treatment for male infertility: a systematic review. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.* 16, 383–390.

Zhou, W., De Iuliis, G. N., Dun, M. D., & Nixon, B. (2018). Characteristics of the Epididymal Luminal Environment Responsible for Sperm Maturation and Storage. *Frontiers in endocrinology*, 9, 59. <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00059>

Zini A. (2011). Are sperm chromatin and DNA defects relevant in the clinic?. *Systems biology in reproductive medicine*, 57(1-2), 78–85. <https://doi.org/10.3109/19396368.2010.515704>