

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

ERKEK ÜRETRASINDA BAKTERİYEL VAGİNOZİS İLE İLİŞKİLİ BAKTERİLERİN TANIMLANMASI

Ayşe Rüveyda Uğur

TIPTA UZMANLIK TEZİ

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman

Prof. Dr. İnci TUNCER

Konya-2015

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

ERKEK ÜRETRASINDA BAKTERİYEL VAGİNOZİS İLE İLİŞKİLİ BAKTERİLERİN TANIMLANMASI

Ayşe Rüveyda Uğur

TIPTA UZMANLIK TEZİ

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman

Prof. Dr. İnci TUNCER

Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimse Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 13102035 proje numarası ile desteklenmiştir.

Konya-2015

İÇİNDEKİLER

1.GİRİŞ.....1

1.1. Genel Bilgiler.....3

1.1.1. Erkek Üretrasının Anatomisi ve Embriyolojisi.....3

1.1.2. Erkek Ürogenital Kanal Bağışıklık Sistemi.....4

1.1.3. Sünnet ve Cinsel Yolla Bulaşan Hastalıklara Etkisi.....6

1.2. Bakteriyel Vaginozis.....7

1.2.1. Bakteriyel Vaginozis Tanısı.....8

1.2.2. Bakteriyel Vaginozisin Etiyopatogenezi ve Mikrobiyolojisi.....9

1.2.3. Bakteriyel Vaginozis ve Risk Faktörü Olarak Cinsel İlişki.....10

1.3. Laktobasiller ve Bakteriyel Vaginozis ile İlişkili Bakteriler Hakkında Genel Bilgiler12

1.3.1. *Lactobacillus* cinsi.....12

1.3.1.1. *Lactobacillus crispatus*.....14

1.3.1.2. *Lactobacillus iners*.....15

1.3.1.3. *Lactobacillus gasseri*.....17

1.3.1.4. *Lactobacillus jensenii*.....18

1.3.2. *Gardnerella vaginalis*.....19

1.3.3. *Mobiluncus mulieris*.....21

1.3.4. *Atopobium vaginae*.....22

1.3.5. *Prevotella* spp.....23

1.3.6. Bacterial Vaginosis Associated Bacterium1, 2, 3 (BVAB1, 2, 3).....24

1.3.7. *Leptotrichia*.....24

1.3.8. *Sneathia*.....25

2. GEREÇ ve YÖNTEM.....27

2.1. Örneklerin Toplanması.....27

2.2. Kültür 27
2.3. Gram Boyma 27
2.4. Örneklerin Saklanması 28
2.5. DNA İzolasyonu 28
2.6. PCR Miksinin Hazırlanması 29
2.7. PCR Yöntemi 31
2.8. Jelde Yürütme 33
2.8.1. TBE (Tris-borate-EDTA=0.5X) Hazırlama 33
2.8.2. Jel Hazırlama 33
2.8.3. Loading Dye Hazırlama ve Jele Yerleştirilmesi 33
2.8.4. Jelde Yürüyen DNA'ların Görüntülenmesi 34
2.9. İstatiksel Analiz 34
2.10. Etik Kurul Onayı 34
3. BULGULAR 35
4. TARTIŞMA 42
5. SONUÇ ve ÖNERİLER 51
KAYNAKÇA 52
ÖZET 64
Summary 65
EKLER 66
EK. A-1: Onam Formu 66
EK. A-2: Onam Formu 67
EK. B: Anket Formu 68
EK. C: Etik Kurul Raporu 69
ÖZGEÇMİŞ 70

ÇİZELGE

Çizelge 2.6.1. Hedef bakterilere ait primer dizileri ve amplikon büyüklükleri. 30

Çizelge 2.6.2. PCR miksi için kullanılan malzemeler ve miktarları. 31

Çizelge 2.7.1. A. vaginae, BVAB1, BVAB2, BVAB3, Eggerthella-benzeri bakteri, L. iners, Leptotrichia/Sneathia, Megasphaera tip 1, Peptoniphilus spp, P. lacrimalis ve Prevotella için yapılan PCR işlemine ait ısıl döngü diyagramı. 31

Çizelge 2.7.2. G. vaginalis ve M. mulieris için PCR işlemine ait ısıl döngü diyagramı. ..32

Çizelge 2.7.3. L.crispatus için PCR işlemine ait ısıl döngü diyagramı. 32

Çizelge 2.7.4. Bakteri 16S rRNA primeri, Corynebacterium spp., Lactobacillus spp., L. jensenii ve L. gasseri için PCR işlemine ait ısıl döngü diyagramı.Jelde Yürütme 32

Çizelge 3.1. İdrar örneklerinde belirlenen bakteri sayısının ve cinsel ilişki durumuna göre yüzdeleri. 35

Şekil 3.1. Lactobacillus spp.'ye ait PCR sonuçlarının Gel Logic 200 Imaging System görüntüsü (çalışmamızdan) 36

Çizelge 3.2. İdrar örneklerinde belirlenen bakterilerin sıklığı. 37

Şekil 3.2. Lactobacillus iners'e ait PCR sonuçlarının Gel Logic 200 Imaging System görüntüsü (çalışmamızdan). 38

Şekil 3.3. Atopobium vaginae'ye ait PCR sonuçlarının Gel Logic 200 Imaging System görüntüsü (çalışmamızdan). 38

Şekil 3.4. Şekil 3.2. Gardnerella vaginalis'e ait PCR sonuçlarının Gel Logic 200 Imaging System görüntüsü (çalışmamızdan). 38

Çizelge 3.3. Toplam 101 Lactobacillus spp.'nin diğer bakterilerle birliktelikleri……...39

Çizelge 3.4. Lactobacillus spp. saptanmayan örneklerde belirlenen diğer bakteriler. 40

Çizelge 3.5. Cinsel ilişki durumuna göre L. iners, Peptoniphilus spp., G. vaginalis, A. vaginae ve Prevotella'in görülme sıklıkları 40

Grafik 3.1. Cinsel ilişki durumuna göre L. iners, Peptoniphilus spp., G. vaginalis, A. vaginae ve Prevotella'nın görülme yüzdeleri 41

SİMGELER ve KISALTMALAR

ABD: Amerika Birleşik Devletleri

bp: base pair

BV: Bakteriyel vaginozis

BVAB: Bacterial vaginosis associated bacterium

CDC: Centers for Disease Control

CYBH: Cinsel yolla bulaşan hastalıklar

DNA: Deoksiribonükleik asit

DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü

H_2O_2: Hidrojen peroksit

HIV: Human immunodeficiency virus

HSV: Human simplex virus

HPV: Human papilloma virus

KS: Koronal sulkus

ml: mililitre

MRS agar: de Man, Rogosa ve Sharpe agar

PCR: Polymerase Chain Reaction

PRR: Patern Recognition Recptors

rRNA: ribozomal Ribonükleik asit

µl: mikrolitre

ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR

Tezimin hazırlanmasında ve uzmanlık eğitimimde emeği geçen danışmanım Sayın Prof. Dr. İnci TUNCER'e, değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Duygu FINDIK, Sayın Doç. Dr. Uğur ARSLAN, Sayın Yrd. Doç. Dr. Hatice TÜRK DAĞI'ya, tez çalışmamın her aşamasında sorularıma çözümler öneren ve bana destek olan Sayın Dr. Tomislav POGACIC'e, istatistik konusunda yardımını esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Seyit Ali KAYIŞ'a, Sayın Doç. Dr. Hüsamettin VATANSEV'e, çalışmalarımda beni destekleyen sevgili meslektaşım Uzm. Dr. Feyza ALP'e ve tüm mesai arkadaşlarıma, bu çalışma sürecinde bana anlayış gösteren sevgili aileme, eşime ve kızıma sonsuz teşekkürler.

Ayşe Rüveyda UĞUR
KONYA, 2015

SİMGELER ve KISALTMALAR

ABD: Amerika Birleşik Devletleri

bp: base pair

BV: Bakteriyel vaginozis

BVAB: Bacterial vaginosis associated bacterium

CDC: Centers for Disease Control

CYBH: Cinsel yolla bulaşan hastalıklar

DNA: Deoksiribonükleik asit

DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü

H_2O_2: Hidrojen peroksit

HIV: Human immunodeficiency virus

HSV: Human simplex virus

HPV: Human papilloma virus

KS: Koronal sulkus

ml: mililitre

MRS agar: de Man, Rogosa ve Sharpe agar

PCR: Polymerase Chain Reaction

PRR: Patern Recognition Recptors

rRNA: ribozomal Ribonükleik asit

µl: mikrolitre

1. GİRİŞ

İnsan vücudunda yaşayan mikroorganizmaların tümüne "mikrobiyota" veya "mikroflora", genomlarına ise kolektif olarak "mikrobiyom" adı verilmektedir. İnsan vücudunda mikroorganizmaların en yoğun barındığı organ kolondur. Kolon gibi diğer vücut bölgeleri de kendine özgü mikrobiyotaya sahiptir. Bu mikroorganizma toplulukları bulundukları konakta önemli metabolik ve fizyolojik olayları düzenlemekte, hayatın erken evrelerinde bağışıklık sisteminin olgunlaşmasında görev almakta, böylece yaşam boyunca homeostazın sağlanmasına katkıda bulunmaktadır (Doerflinger ve ark 2014, Shreiner ve ark 2015).

İnsan deri, ağız, gastrointestinal kanal ve vajen bölgelerinin metabolik olarak birbirine bağlı çok yüksek çeşitlilikte mikrobiyal toplulukları barındırdığı artık bilinmektedir. Bu bakteri topluluklarının oldukça büyük bir kısmı, standart kültürlerde üreyemedikleri için daha önce tanımlanmamıştır (Frank ve Pace 2001, Robinson ve ark 2010). Mikrobiyota yapısı durağan olmayıp, konakçı-mikrobiyota ilişkisi, fonksiyon ve disbiyozis de denilen kompozisyon yapısındaki farklılıklar nedeniyle değişebilmektedir. Bu bakteri topluluklarının insan sağlığının üzerinde önemli rol oynadığı, bu nedenle mikrobiyota yapısındaki değişikliklerin obezite, inflamatuvar barsak hastalıkları, bakteriyel vaginozis gibi pek çok hastalıkla ilişkili olduğu kanıtlanmıştır (Turnbaugh ve ark 2006, Turnbaugh ve ark 2009, Nibali ve ark 2014).

Erkek genital kanal mikrobiyotası/mikroflorası ile ilgili çalışmalar, kadın genital kanalı da dahil olmak üzere diğer vücut bölgelerinin her zaman gerisinde kalmıştır. Aralık 2014 tarihi itibarı ile PubMed'de indekslenmiş 24 milyonun üzerindeki bilimsel çalışma arasında "penis microbiome", "urethra microbiome" veya "male genital tract microbiome" terimleri arandığında, çoğu birbiri ile örtüşen 10-20 literatüre rastlanmaktadır. "Semen microbiome" ile ilgili 11 araştırma bulunmaktadır. Başlıklarında semen mikrobiyotası veya seminal mikrobiyota geçen dört literatürden birinin 2013, diğer üçünün ise 2014 tarihli olduğu görülmektedir. "Coronal sulcus microbiome" ile ilgili 2012 ve 2013 tarihli dört araştırma belirlenmiştir. Erkek ürogenital kanalında yer alan

kommensal bakterilerin ürogenital kanalın homoeostazisini etkilediği göz önüne alındığında ve diğer vücut bölgeleri ile ilgili mikrobiyota çalışmalarının çokluğu karşısında erkek ürogenital kanalıyla ilgili bu kadar az literatür ile karşılaşılması oldukça saşırtıcıdır. Burada belirtmek gerekir ki mikrobiyom çalışmalarının, yeni nesil sekanslama ve biyoinformatik teknikleri ile sürdürülen oldukça masraflı çalışmalar olması, bu alandaki çalışmaların henüz yaygınlaşmamasının en önemli nedenidir. Daha ucuz ve kolay ulaşılabilir bir yöntem olan bakteri hedefli PCR çalışmaları mikrobiyota/mikroflora çalışmalarına katkı sağlamaktadır.

İnsan vücudunun dış ortamla bağlantılı bütün bölgeleri gibi erkek ve kadın ürogenital kanalları, yabancı mikroorganizmaların girişine fizyolojik bir bariyer görevi gören ancak pek çok kommensal bakteri türünü barındıran mukoza tabakaları ile kaplıdır. Laktobasillerin azalarak anaerob bakterilerin aşırı çoğalması ile karakterize bakteriyel vaginozis, üreme çağındaki kadınlarda görülen en sık genital infeksiyondur. Bakteriyel vaginozis pek çok komplikasyonlarının olması yanında cinsel yolla bulaşan hastalıkların bulaş riskini de artırması bakımından dikkatleri üzerine çekmektedir. Henüz etiyopatogenezi tam olarak aydınlatılamamasına rağmen, cinsel yolla bulaşan hastalıklara benzer epidemiyolojik ipuçları taşıması nedeniyle cinsel ilişkinin bakteriyel vaginozis patogenezinde etkili olduğu düşünülmektedir. Tek eşli çiftlerle yapılan bir araştırmada eşlerin bakteriyel vaginozis etiyopatogenezinde anahtar mikroorganizma olan *Gardneralla vaginalis* suşlarının aynı oligotiplerini taşıdıkları belirlenmiştir (Eren ve ark 2011). Erkeklerin idrarında, semen ve prostat salgısında bakteriyel vaginozise özgü mikroskopik bir bulgu olan ipucu hücrelerinin varlığı gösterilmiştir (Schwebke ve ark 2009, Swidsinski ve ark 2010, Swidsinski ve ark 2010).

Bakteriyel vaginoziste, mikrobiyota dengesinin laktobasillerden anaerob bakteriler lehine kaymasına neden olan başlatıcı faktör cinsel ilişki midir? Ortak embriyolojik kaynakları nedeniyle erkek ve kadın ürogenital kanallarının barındırdıkları bakteri topluluklarının da benzer olması şaşırtıcı olmayacaktır. Çalışmamızda, erkek üretrasında bakteriyel vaginozis ile ilişkili bakterilerin PCR yöntemi ile araştırılması ve bakteriyel vaginozis etiyolojisinin aydınlatılmasına dolaylı olarak katkı sağlanması amaçlanmıştır.

1.1. Genel Bilgiler

Anatomik olarak penil üretra üriner sistem kanalının bir parçası olmasına rağmen, genital kanala özelleşmiş görevleri olan bir organdır. Periüretral Littre ve bulboüretral Cowper bezlerinden cinsel aktivite sırasında yüksek viskoziteye sahip bir salgı olan preejekülatüvar sıvının üretimi ve ejekülasyon sırasında semenin taşınması bu görevler arasında sayılabilir. Ayrıca penil üretra, cinsel ilişki sırasında cinsel yolla bulaşan patojenlerle ilk kez karşılaşılan bölgedir. Bu nedenle de, konakçı bağışıklık sisteminin bu mikroorganizmalara karşı korunma ve savunmasında stratejik öneme sahiptir (Pudney ve Anderson 1995).

1.1.1. Erkek Üretrasının Anatomisi ve Embriyolojisi

Erkek üretrası mesane kollumundan başlayıp glans penis üzerindeki üretral meatusta sonlanan, idrar ve ejakülatın boşalmasını sağlayan bir kanaldır. Erişkinlerde yaklaşık olarak 15-20 cm uzunluğundadır. Median sagital kesitten bakıldığında penis sarkık durumdayken S harfi şeklinde olup iki eğrilik gösterir. Kurvatura infrapubika denilen ilk eğrilik mesane ile simfizis pubisin alt kenarına kadar olan mesafededir. Kurvatura infrapubika denilen ikinci eğrilik ise ligamentum suspansoryumun penise yapıştığı hizada aşağıya doğru bükülür (Tanagho 2009).

Üretra klinik olarak ön ve arka üretra diye ikiye ayrılır. Pelvis içinde seyreden arka üretra ile penis içinde seyreden ön üretra arasında üregenital diyafram yer almaktadır. Erkek üretrası organ komşuluklarına göre üç kısma ayrılmaktadır (Tanagho 2009):

1. Prostatik üretra
2. Membranöz üretra
3. Penil üretra

Üretra idrarın boşaltılmasında pasif bir rol oynar. Kontinansın sağlanmasında iki sfinkterik mekanizmanın etkili olduğu kabul edilmektedir. İlk ve asıl etkili

sifinkter istemli çalışan çizgili kaslardan yapılmış eksternal sfinkterdir ve çalışmasına pelvis taban kasları katkı sağlar. İkinci sfinkter istemsiz çalışır ve prostatik üretra kısmını saran eksternal longitüdinal liflerin oluşturduğu spiral ve sirküler çizgisiz kas lifleridir. Mesane içi basıncın üretral basıncı aşması ile miksiyon gerçekleşir (Tanagho 2009).

Posterior erkek üretrası ürogenital sinüsten kaynaklanır. Gelişmekte olan embriyoda ürogenital sinüs uzayarak ikiye ayrılır. Ventral kısmından gelişen pars pelvina parçası prostatik üretrayı oluşturur. Pars fallika parçası üretral plak olarak kalır. Penil üretranın büyük kısmı fallusun uzaması ile gelişir. Üretral oluk bazalden başlayarak 14. hafta sonuna kadar tamamen kapanır (Tanagho 2009).

Üretranın iç yüzü prostatik üretra kısmında çok katlı değişici epitelle (üretelyum) örtülüdür. Membranöz üretra, ön üretra ve fossa navikülarise kadar olan kısım çok katlı prizmatik epitelle, fossa navikülaris ise çok katlı yassı epitelle örtülüdür (Tanagho 2009).

1.1.2. Erkek Ürogenital Kanal Bağışıklık Sistemi

Erkek ve kadın ürogenital kanalları hormonların, bağışıklık hücrelerinin ve mikroorganizmaların karşılıklı etkileşimde bulunduğu karmaşık bir ekosistemdir (McDermott ve ark 1980).

Erkek ürogenital kanalında penisin dış yüzeyi, keratinize çok katlı yassı epitel hücreleri ile kaplanmıştır. Üretral orifis, nonkeratinize çok katlı yassı epitel hücrelerinden oluşur. Kadınlarda vajenin çok katlı yassı epitel tabakasından endoserviksin glandüler kolumnar epitel tabakasına geçiş hattı olan servikal transformasyon hattı, başlıca infeksiyon ve bağışık yanıtın gerçekleştiği bölgedir. Erkeklerde benzer bölge, penis derisinin ve fossa navikülarisin çok katlı yassı epitel tabakasından glandüler kolumnar epitel tabakasına geçiş yeri olan penil üretradır (Brotman ve ark 2014).

Erkeklerde penil üretra cinsel yolla bulaşan hastalıkların (CYBH) edinilmesinden sorumlu primer bölgedir. Penil üretra mukozasının bağışıklığına dair çalışmalar

sayıca az olmasına rağmen, üretranın infeksiyöz mikroorganizmalara karşı güçlü bir doğal ve edinilmiş bağışıklığının olduğu kanıtlanmıştır (Mestecky ve ark 2005, Pudney ve Anderson 2011). Yine de, erkek ürogenital kanalındaki infeksiyonların patogenezi ve bağışıklığı ile ilgili bilinenler, kadınlarla karşılaştırıldığında çok daha azdır. Bunun nedeni kadın genital dokusuna ve sekresyonlarına göreceli olarak daha kolay ulaşılabilinmesidir (Pudney ve Anderson 2011). Üretral bölgeden sürüntü veya lavaj yoluyla üretral salgıların toplanması ağrılı bir işlemdir. Penil üretradaki bağışıklık hücreleri ile ilgili çalışmaların çoğu otopsilerden elde edilen dokular üzerinde yürütülmektedir (Mestecky ve Fultz 1999). Ancak son zamanlarda immünolojik çalışmalar için preejekülatuvar sıvı ve ilk akım idrar gibi alternatif yöntemler de kullanılmaya başlanmıştır (Pudney ve Anderson 2011).

Üretranın epitel hücreleri, birincil savunma olarak membranla ilişkili bir takım müsinler salgılar. Müsinler, ıslak yüzeyli epitel hücrelerini patojen invazyonuna karşı koruyan ve lubrikasyon sağlayan büyük hidrofilik glikoproteinlerdir (Russo ve ark 2006). Erkek üreme kanalı kan-testis bariyerinin olması bakımından oldukça ayrıcalıklı bir bağışıklık yapısına sahiptir. Sertoli hücreleri arasındaki sıkı bağlantılar, kompleman ve immünglobulinlerin seminifer tübüllere geçişini engeller (Russell ve Mestecky 2010).

Erkek ürogenital kanal mukozası indükleyici mukoepitelyal yapılardan yoksundur. Diğer mukozal alanlardan farklı olarak genital salgılarda baskın immünoglobulin türü IgG'dir. Genital salgılardaki IgG'nin büyük bir kısmı lokal kan dolaşımı kaynaklıdır (Mestecky ve Fultz 1999, Moldoveanu ve ark 2005). *Chlamydia trachomatis* başta olmak üzere cinsel yolla bulaşan infeksiyonlar güçlü lokal IgA yanıtına neden olabilmektedir (Terho ve Meurman 1981, Russell ve Mestecky 2002). Ancak serumda, vajinal sıvıda ve semende HIV'e karşı IgA yanıtı eksiktir (Mestecky ve ark 2009).

Üretrayı döşeyen epitel hücreleri, kalıp tanıma reseptörleri (pattern recognition receptors, PRR) aracılığı ile doğal bağışıklığa katkıda bulunur. Bu reseptörler, patojenler ve hücresel stres ile ilgili molekülleri tanır ve antijen sunmada rol oynar. CD4 pozitif ve CD8 pozitif T lenfositler üretranın her bölümünde bol

miktarda bulunur. T lenfositlerin çoğunluğu CD45RO (memory marker), birçoğu ise alfa E beta 7 integrin (mucosal-associated antigen) taşır (Pudney ve Anderson 2011). Makrofajlar ve dendritik hücreler, epididim ve prostatta oldukça nadir bulunmalarına rağmen prepisyum ve penil üretrada bol miktarda mevcuttur (Pudney ve Anderson 2011).

Özet olarak erkek ürogenital kanalında, edinilmiş bağışıklık göreceli olarak baskılanmıştır. Buna karşın lokal infeksiyonlara karşı doğal bağışıklık güçlenmiştir (Brotman ve ark 2014). Ancak erkek üretrası, humoral ve hücresel bağışıklıktaki bütün aracılara sahip oldukça dinamik ve iyi işleyen bir sisteme sahiptir (Pudney ve Anderson 1995).

1.1.3. Sünnet ve Cinsel Yolla Bulaşan Hastalıklara Etkisi

Cinsel yolla bulaşan hastalıklar genç erkeklerde, gelişmekte olan ülkelerde istenmeyen hastalıkların ilk on sırasında, genç kadınlarda ise bütün dünyada ikinci sırada yer almaktadır (Nardis ve ark 2013). Cinsel yolla bulaşan hastalıklardan birine sahip bireylerin %60'ında ikinci bir CYBH etkeninin olduğu tahmin edilmektedir. HIV bulaş riskinin CYBH varlığında arttığı çok iyi bilinmektedir. Ayrıca pek çok CYBH'nın asemptomatik olarak seyrettiği düşünülürse konunun önemi daha da iyi anlaşılacaktır (Nardis ve ark 2013).

Randomize gözlemsel çalışmalar sünnetin erkeklerde HIV infeksiyon riskini %60 oranında azalttığını göstermektedir (Auvert ve ark 2005, Bailey ve ark 2007, Gray ve ark 2007). Bu nedenle Dünya Sağlık Örgütü (World Health Orgaization, WHO), Human immunedeficiency virüsten (HIV) korunmak için erkek sünnetini önermektedir (DSÖ 2011).

Son yıllarda yapılan bir çalışmada, HIV negatif 12 erkeğin penis gövdesi ve glans penis arasındaki koronal sulkus (KS) mikrobiyotası, 16S rRNA pirosekanslama yöntemi ile sünnetten önce ve sonra araştırılmıştır (Price ve ark 2010). Bu çalışmada, tanımlanan 42 bakteri ailesi içinden *Pseudomonadaceae* ve *Oxalobactericeae*, sünnet durumuna bağlı olmaksızın en yüksek sıklıkta görülmüştür. Sünnetin KS'nin genel mikrobiyota yapısını değiştirdiği ve

anaerobik bakteri ailelerinin azalmasına neden olduğu belirlenmiştir (Price ve ark 2010). Özellikle bakteriyel vaginozis (BV) ile ilişkili *Clostridiales* ailesi XI ve *Prevotellaceae*'nın sünnet öncesi daha yaygın olduğu gösterilmiştir (Price ve ark 2010).

Bağışıklık sisteminin aktivasyonu, mukozal bölgelere HIV'in girerek çoğalması, yayılması ve hücresel bağışıklığın çökmesi, HIV patogenezindeki kritik olaydır. Subprepisyal alanın anoksik mikroçevresi, HIV'i CD4 pozitif hücrelere sunan Langerhans hücrelerini uyaran anaerobik bakterilerin yaşamasını desteklemektedir. Böylelikle sünnet sonrası KS'de anaerobik Gram negatif bakterilerin yaşama alanlarının ortadan kaldırılması sonucu HIV, Human simplex virus 2 (HSV-2) ve Human papilloma virus (HPV) insidans ve prevelansının azaldığı gösterilmiş, bakteriyel CYBH bulaş riskinde de azalma olduğu öne sürülmüştür (Price ve ark 2010, Nelson ve ark 2012, Liu ve ark 2013, Tobian ve ark 2014).

Koronal sulkusun BV'ye benzeyen anaerobik mikroflorası gibi, kadınlarda da BV, benzer şekilde HIV, HSV-2, HPV ve bakteriyel CYBH riskini artırmaktadır. (Gallo ve ark 2012, Leli ve ark 2013, Nardis ve ark 2013, Joseph ve ark 2014). Ancak kadın ve erkekte ürogenital kanal kommensal mikroflorasının CYBH bulaşındaki rolü henüz tam olarak bilinmemektedir.

1.2. Bakteriyel Vaginozis

Bakteriyel vaginozis üreme çağındaki kadınlarda en sık görülen genital infeksiyondur (Allsworth ve Peipert 2007). Bakteriyel vaginozis, vajenin normal florasının bozularak *Gardnerella vaginalis* ve *Mobilincus* türleri gibi pek çok anaerob bakterinin, laktobasillerin yerini almasıyla gelişen klinik bir durumdur. Hastaların neredeyse yarısı asemptomatik olabilirken semptomatik kişilerde kötü kokulu vajinal akıntı tipiktir (Hawes ve ark 1996, Beigi ve ark 2005).

Bakteriyel vaginozis, koryoamniyonit, spontan düşük, preterm eylem, düşük doğum ağırlığı, düşük sonrası endometrit gibi ciddi sekellere neden olmaktadır

(Gravett ve ark 1986, Hillier ve ark 1995, Meis ve ark 1995, Goldenberg ve ark 1997). Güncel tedavilere rağmen tedavi başarısızlığı oldukça yüksektir (Koumans ve ark 2002, Beigi ve ark 2004, Bradshaw ve ark 2006, Chen ve ark 2009, Jones ve Ewigman 2011, Donders ve ark 2014, Wang ve ark 2014).

Bakteriyel vaginozis, *Neisseria gonorrhea, Chlamydia trachomatis, Trichomonas vaginalis,* HIV, HSV ve HPV infeksiyonları gibi cinsel yolla bulaşan hastalıkların riskini ikiye katlamaktadır (Wiesenfeld ve ark 2003). Bakteriyel vaginozisin HIV-1 RNA ekspresyonunu ve HSV-2 bulaştırma riskini artırdığı gösterilmiştir (Taha ve ark 1998, Cu-Uvin ve ark 2001, Cherpes ve ark 2003, Cherpes ve ark 2005, Sha ve ark 2005). Bakteriyel vaginozisin infertilite ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. İnfertilitenin BV'li kadınlarda daha yaygın görüldüğü ortaya konmuştur (van Oostrum ve ark 2013). Bu nedenlerle BV'nin önemi giderek artmakta ve bu alanda pek çok araştırmaya konu olmaya devam etmektedir.

1.2.1. Bakteriyel Vaginozis Tanısı

Bakteriyel vaginozisin tanısı, en yaygın olarak, 1983'te geliştirilen klinik tanı kriterleri ile konulmaktadır (Amsel ve ark 1983).

1- Homojen, gri/beyaz renkli ince yapışkan vajinal akıntı,

2- Vajen pH'sının 4.5'ten büyük olması,

3-Pozitif Whiff testi (Vajinal akıntı üzerine %10'luk KOH damlatılmasıyla aminlerden kaynaklanan kötü koku belirmesi),

4- Vajinal akıntının direkt mikroskobik incelenmesinde ipucu hücrelerinin (clue cell) görülmesi.

Bu dört kriterden en az üçünün tespit edilmesi durumunda BV tanısı konabilmektedir. Ancak BV'nin yüksek oranda asemptomatik olması BV tanısının atlanabilmesine neden olmaktadır. Bu nedenle Nugent ve ark.(1991) vajinal akıntının Gram boyamasının değerlendirilmesine dayanan bir tanı yöntemi geliştirmişlerdir. Bu yöntemde bakterilerin morfotipleri (laktobasiller, *G. vaginalis/Bacteroides*, *Mobiluncus*), göreceli prevalansları ve ipucu hücrelerinin varlığı ölçülmektedir (Nugent ve ark 1991).

Miroskopta büyük Gram pozitif basiller (*Lactobacillus* morfotipi; 4–0 arasında skorlanır), küçük Gram değişken basiller (*G. vaginalis* morfotipi; 0-4 arasında skorlanır), kıvrık Gram değişken basiller (*Mobiluncus* morfotipi; 0-2 arasında skorlanır) sayılarak toplamda bir skor elde edilir. Nugent skoru (NS) olarak adlandırılan bu skor 0-10 arasında değişir. Nugent skoru 0-3 ise normal, 7-10 arasında ise BV, 4-7 arasında ise bozulmuş flora şeklinde tanımlanır (Nugent ve ark 1991).

1.2.2. Bakteriyel Vaginozisin Etiyopatogenezi ve Mikrobiyolojisi

Vajen salgı yapan hücre içermeyen çok katlı yassı epitel hücreleri ile döşenmiş bir organdır. Vajenin dinamik yapısı hormonlar, menstrüasyon, vajinal duş, gebelik durumu ve cinsel ilişki gibi etmenlerden etkilenmektedir (Georgijevic ve ark 2000, Bradshaw ve ark 2005, Bradshaw ve ark 2006, Cherpes ve ark 2008, Yotebieng ve ark 2009, Luong ve ark 2010, Marrazzo ve ark 2010, Mitchell ve ark 2011, Fethers ve ark 2012, Schwebke ve ark 2014). Laktobasiller doğumdan sonraki birkaç hafta boyunca asidik pH nedeniyle yenidoğan vajeninde yer alır. Ancak erken çocukluk döneminden ergenlik dönemine kadar vajen pH'sı nötral seyreder. Bu dönem boyunca laktobasillerin de yer aldığı çeşitli bakteriler vajen mikroflorasını oluşturur. Ergenlik ve menarş dönemindeki ani hormonal değişiklikler vajen mikroflorasının kolonizasyonuna zemin hazırlar (Carlsson ve Gothefors 1975, Hammerschlag ve ark 1978).

Vajinal sekresyonlar vulvada yer alan Bartholin, Skene, sebase ve ter bezlerinin salgıları, servikal mukus, endometriyal ve tubal sıvı, dökülmüş vajinal ve servikal hücreler, mikroorganizmalar ve onların metabolik ürünlerinden meydana gelir (Owen ve Katz 1999).

Üreme çağındaki kadınlarda yüksek östrojen seviyeleri vajen epitelinde yüksek miktarlarda glikojen depolanmasına neden olmaktadır (Paavonen 1983, Boskey ve ark 1999). Başta laktobasiller olmak üzere pekçok bakteri depolanan glikojeni metabolize ederek organik asit üretilmesini sağlar (Redondo-Lopez ve ark 1990, Boskey ve ark 1999). Ortaya çıkan düşük vajen pH'sı (4–4.5) patojen

mikroorganizmaların çoğalmasını engeller. Bu nedenle laktobasillerin baskın olduğu mikroflora sağlıklı kabul edilmektedir (Redondo-Lopez ve ark 1990).

G. vaginalis tarihsel olarak BV'den sorumlu tutulan başlıca bakteridir (Fethers ve ark 2012). *G. vaginalis*'in BV etiyopatogenezinde yer alan anaerob bakterilerin kolonizasyonuna zemin hazırladığı öne sürülmüştür (Swidsinski ve ark 2005, Josey ve Schwebke 2008, Swidsinski ve ark 2008, Harwich ve ark 2010). Son zamanlardaki bilimsel araştırmalarda, büyük çoğunluğunu *G. vaginalis* ve *Atopobium vaginae*'nın oluşturduğu biyofilm yapısının, BV'nin temelini oluşturduğu gösterilmiştir (Swidsinski ve ark 2008). *G.vaginalis* ve *A. vaginae*'nın birlikte ve yüksek kopyalarla tespit edilmesi BV tanısında yüksek duyarlılık (%95) ve özgüllüğe (%99) sahiptir (Menard ve ark 2008, Jespers ve ark 2012, Marconi ve ark 2012). Moleküler yöntemlerin ilerlemesi ile bazı anaerobik bakterilerin BV ile ilişkili olduğu ortaya çıkmıştır (Verhelst ve ark 2004, Zhou ve ark 2004, Fredricks ve ark 2005, Hyman ve ark 2005, Fredricks ve ark 2007, Oakley ve ark 2008). Bu bakteriler arasında *Clostridia* like bacterial associated bacterium1 (BVAB1), 2, 3; bu bakterilerle taksonomik olarak yakın ilişkili laktik asit üreten *Leptotrichia* ve *Sneathia* cinsleri; kültürde üremeyen *Megasphaera* like phylotype1 (tip1) yer almaktadır (Fredricks ve ark 2005). Fredricks ve ark.(2005) BV olgularının tamamında belirlenen herhangi bir bakteriye rastlanmadığını ancak BVAB2 veya *Megashpaera* tip1'in herhangi birinin varlığının BV tanısında %100 duyarlılık ve %91.3 özgüllüğe sahip olduğunu göstermişlerdir.

Özetle, bakteriyel vaginozisli kadınların vajinal salgılarında *G. vaginalis* ve *A. vaginae*'nın yanı sıra, *Prevotella*, BVAB1, BVAB2, BVAB3, *Peptoniphilus, Eggerthella, Leptotrichia/Sneathia, Megasphaera* türlerinin logaritmik olarak arttığı kanıtlanmıştır (Rodriguez Jovita ve ark 1999, Verhelst ve ark 2004, Fredricks ve ark 2005, Fredricks ve ark 2007, Zhou ve ark 2007). Ancak BV ile ilişkili bu bakterilerin BV etiyopatogenezindeki rolleri ve cinsel yolla bulaşıp bulaşmadıkları hayvan modellerinin olmaması nedeniyle henüz bilinmemektedir (Fethers ve ark 2012).

1.2.3. Bakteriyel Vaginozis ve Risk Faktörü Olarak Cinsel İlişki

Çok uzun bir süredir BV'nin cinsel yolla bulaşan bir hastalık mı yoksa vajen mikroflorasının henüz anlaşılamayan etkenler nedeniyle bozulması sonucu mu geliştiği konusundaki tartışmalar devam etmektedir. Epidemiyolojik çalışmalar yeni cinsel eş, birden fazla cinsel eş sayısı, erken yaşta cinsel deneyim, daha önce geçirilmiş CYBH, kondom kullanılmaması, sağlık kuruluşlarına ulaşmada engellerin olması ve genç yaşın, CYBH için belirlenen risk faktörleri olduğunu göstermiştir. Bakteriyel vaginozis için belirlenen risk faktörleri arasında ise sık cinsel ilişki, birden fazla cinsel eş sayısı, yeni cinsel eş, sık reseptif oral seks, vajinal ilişki öncesi reseptif anal seks ve sünnetsiz erkek eşle cinsel ilişki yer almaktadır (Schwebke ve ark 1999, Vallor ve ark 2001, Schwebke ve ark 2004, Fethers ve ark 2008, Fethers ve ark 2009, Fethers ve ark 2012, Kenyon ve Colebunders 2014).

Bakteriyel vaginoziste eş tedavisinin rekürensleri azaltmaması BV'nin cinsel yolla bulaşan bir hastalık olduğu tezine aykırı düşmektedir (Vejtorp ve ark 1988, Mengel ve ark 1989, Vutyavanich ve ark 1993, Bukusi ve ark 2011). Ancak cinsel yolla bulaşan hastalıklar ile benzer risk faktörlerine sahip olması; penis ve üretranın BV ile ilişkili bakterilerle kolonize olabilmesi, korunmasız sık cinsel ilişkinin ve yeni cinsel partnerin BV'ye neden olan en büyük predispozan faktörler olması, BV'nin cinsel yolla bulaşan bir hastalık olduğu savını kuvvetlendirmektedir (Fethers ve ark 2008, Fethers ve ark 2009, Verstraelen ve ark 2010).

Semen bir takım proteinlerin, mikroorganizmaların ve inflamasyon belirteçlerinin yer aldığı bir salgıdır. Bu nedenle cinsel ilişki, vajen pH'sını düşürmek ve vajen mikroflorasında dalgalanmalara neden olmak suretiyle normal vajen mikroflorasının dengesini bozabilmektedir (Nasu ve Narahara 2010).

Tedavi sonuçlarını iyileştirerek BV'nin neden olduğu ciddi komplikasyonların önüne geçebilmek ve rekürensleri azaltabilmek için BV'nin gerçekten yetersiz tedavi sonucu persistan bir hastalık mı yoksa cinsel yolla tekrar tekrar bulaşan bir infeksiyon mu olduğunu belirlemek gerekmektedir. Ancak bu yoldaki en büyük

engel, BV'nin tek bir ajan yerine, etiyolojisindeki yerleri tam olarak aydınlatılamamış pek çok anaerobik bakterinin neden olduğu polimikrobiyal bir infeksiyon olmasıdır.

1.3. Laktobasiller ve Bakteriyel Vaginozis ile İlişkili Bakteriler Hakkında Genel Bilgiler

Henüz açıklık kazanmamış olmasına rağmen, normal vajen pH'sını yükselten ve böylece normal vajen mikrobiyotasının dengesini bozan bir takım faktörlerin BV etiyolojisi ve patogenezinde etkili olduğu bilinmektedir. Vajen mikroflorası kadın, fetüs ve yenidoğan sağlığını etkilemektedir. (Milewicz ve ark 2010, Watts 2012, Nelson ve ark 2014). Geleneksel kültür yöntemleri BV etiyopatogenezinde yer alan bazı anaerobik bakterilerin tespitinde yetersiz kalmaktadır. Moleküler biyoloji alanındaki ilerlemeler kültürde üretilemeyen birçok bakterinin belirlenmesine ve tanımlanmasına olanak vermiştir (Fettweis ve ark 2012, Fettweis ve ark 2012). *Clostridiales* takımından bazı yeni türlerin BV'nin yüksek özgüllükte belirteçlerinden olduğu ortaya konmuştur. *Megasphaera, Leptotrichia, Atopobium* ve *Dialister* türleri, BV'li olgulardan sıklıkla tespit edilen yeni tanımlanmış bakterilerdir (Fredricks ve ark 2005).

Üreme çağındaki kadınlarda vajen mikroflorasında laktobasil türleri baskındır. Normal vajen mikroflorasında en sık tespit edilen laktobasil türleri *Lactobacillus crispatus, Lactobacillus gasseri, Lactobacillus jensenii* ve *Lactobacillus iners*'tir (Antonio ve ark 1999, Song ve ark 1999, Pavlova ve ark 2002, Tarnberg ve ark 2002, Jakobsson ve Forsum 2007, Ghartey ve ark 2014). Laktobasillerin hidrojen peroksit, laktik asit ve bakteriosinler gibi metabolik ürünleri normal vajen mikroflorasının devamı ve patojen kolonizasyonuna karşı direnç oluşturmada önemli role sahiptir (Klebanoff ve ark 1991, Al-Mushrif ve Jones 1998, Wilks ve ark 2004, Machado ve ark 2013, Rizzo ve ark 2013).

Bu bölümde BV oluşumuna etkisi ve katkısı olan bakterilerin genel özelliklerinden kısaca bahsedilecektir.

1.3.1. *Lactobacillus* cinsi

Laktobasiller genetik olarak *Firmicutes* şubesi, *Bacilli* sınıfı, *Lactobacillales* takımından bakterilerdir (Makarova ve ark 2006). *Lactobacillales* takımının diğer üyeleri *Leuconostoc, Oenococcus* ve *Pediococcus*'tur. *Lactobacillus* cinsi *Acidophilus complex, Acidophilus salivarius cluster* ve *Acidophilus casei* grup olmak üzere üç ana filogenetik kümeden oluşur (Makarova ve ark 2006). Laktobasiller oldukça karmaşık bir filogenetik ağaca sahiptir. Son yıllara kadar laktobasil olarak sınıflandırılan pek çok cins artık *Atopobium, Carnobacterium, Leuconostoc, Oenococcus* ve *Weissella* olarak yeniden adlandırılmıştır (Barrangou 2011).

Laktobasiller fakültatif anaerob, katalaz negatif, sporsuz, Gram pozitif kokobasil veya basil şeklinde, laktik asit üreten heterojen bir bakteri grubudur. Genellikle düşük G-C içerikli DNA'ya (%33-53) sahiptir (Falsen ve ark 1999). Böylece genomlarındaki GC içeriğinde herhangi bir değişiklik olduğunda horizontal gen transferini (HGT) belirlemek kolaydır. Genomları oldukça küçüktür (1.3–3.3 Mbp) ve bu genler çoğunlukla besin taşınması ve karbonhidratların laktik asite fermentasyonu ile ilgilidir (Makarova ve ark 2006).

Lactobacillus cinsi üyeleri doğada yaygın olarak bulunmaktadır. Gıdalardan bitkilere, toprağa, kanalizasyon sularından insan mukoza yüzeylerine kadar çok geniş yelpazede yaşam alanları vardır (Barrangou 2011). Laktobasiller özellikle fermente süt ürünlerinde, marul ve lahana gibi bitkilerde ve toprakta bolca mevcuttur (Yang ve ark 2010). Pek çok hayvanın ve insanların gastrointestinal kanal, ürogenital kanal, anne sütü, ağız boşluğu ve derilerinin doğal mikrobiyotasının bir parçası olmakla beraber, laktobasillerin hastalıkta ve sağlıkta önemli rol üstlendikleri ve bağışıklık sistemi ile yakından ilgili oldukları bilinmektedir (Gonzalez ve ark 2013, Holgerson ve ark 2013, Petrova ve ark 2013, Kemgang ve ark 2014, Lorenzo Pisarello ve ark 2014).

Laktobasiller pek çok gıda ürününde koruyucu olarak kullanılmalarının yanı sıra probiyotik olarak da artan bir ilgi odağı haline gelmişlerdir (Kemgang ve ark 2014).Yüzün üzerinde *Lactobacillus* türünün arasında *Lactobacillus acidophilus*,

Lactobacillus casei, Lactobacillus delbrueckii subsp. *bulgaricus, Lactobacillus plantarum, Lactobacillus rhamnosus* ve *Lactobacillus salivarius* gibi iyi tanımlanmış teknolojik ve ticari kullanım alanları olanları bulunmaktadır (Barrangou 2011).

İnsan gastrointestinal kanalından ve dışkısından birçok laktobasil türü izole edilmiştir. Bu türler, kişiler arasında ve coğrafi bölgelere göre değişkenlik göstermekle beraber, insan gastrointestinal kanalında en sık rastlananları *L. rhamnosus, L. acidophilus, L. plantarum, Lactobacillus paracasei* ve *Lactobacillus reuteri*'dir (Mueller ve ark 2006). Ağız boşluğunda, tükürük ve diş plaklarında *L. rhamnosus, L. gasseri* ve *L. casei*'ye rastlanırken, anne sütünde benzer olarak *L. fermentum, L. rhamnosus, L. gasseri* ve *L. salivarius* sıklıkla bulunmaktadır (Collado ve ark 2009, Yang ve ark 2010, Fernandez ve ark 2013). Laktobasiller sağlıklı insan vajen mikrobiyotasının da önemli üyeleridir (Barrangou 2011).

Vajen mikrobiyotasında yer alan *L. crispatus* ve *L. jensenii* anaerobik metabolizmaları nedeniyle güçlü asit üreten bakterilerdir. Vajen epitelinde yüksek östrojen seviyesi nedeniyle glikojen depolanmaktadır. Laktobasiller ve epitel hücreleri bu glikojeni asetik asit ve laktik asite metabolize ederek vajenin asidik çevresine katkı sağlarlar. Vajenin asidik pH'ya sahip olması patojenlere karşı koruyucudur. Ek olarak, laktobasillerin probiyotik özelliklerinin, kadın genital sağlığına olumlu katkısının olduğu düşünülmektedir (Boskey ve ark 1999, Africa ve ark 2014).

1.3.1.1. *Lactobacillus crispatus*

L. crispatus *Firmicutes* şubesi, *Bacilli* sınıfı, *Lactobacillales* takımı, *Lactobacillaceae* ailesi, *Lactobacillus* cinsinin bir üyesidir. *L. crispatus* basil şeklinde, Gram pozitif 45°C'de üreyebilen fakültatif anaerob bir bakteridir. Selebiyoz, eskülin, galaktoz, laktoz, melibiyoz, rafinoz, nişasta ve sükrozu fermentler.

Laktobasiller insan gastrointestinal ve ürogenital kanallarında yaygın olarak bulunan bakterilerdir. Bu laktobasiller arasından en yaygın olanı *L. acidophilus complex* altı türe ayrılmıştır: *L. acidophilus* (homology group A1), *L. crispatus* (A2), *Lactobacillus amylovorus* (A3), *Lactobacillus gallinarum* (A4), *L. gasseri* (B1) ve *Lactobacillus johnsonii* (B2) (Horie ve ark 2002). Fenotipik tanımlama yöntemleri kullanıldığında bu türlerin bazılarını birbirinden ayırmak zordur (Song ve ark 2000). Moleküler yöntemlerle kesin identifikasyon yapıldığında, *L. acidophilus complex* içerisinde yer alan farklı türlerin farklı konakçı ve farklı habitatlardan izole edildiği gözlenmiştir. Örneğin, *L. acidophilus*, *L. crispatus*, *L. gasseri* ve *L. johnsonii* insan dışkısından (Mitsuoka 1992, Song ve ark 2000); *L. crispatus, Lactobacillus gallinarum* ve *L. johnsonii* tavuk kloakasından (Miyamoto ve ark 2000); *L. crispatus* ve *L. gasseri* insan vajeninden (Boris ve Barbes 2000, Song ve ark 2000) izole edilmiştir. Vajen kaynaklı *L. acidophilus* complex suşlarının büyük kısmını güçlü asit üretimi yapan *L. crispatus* oluşturmaktadır (Barrangou 2011).

Bazı *L. crispatus* suşlarının, patojenlerin insan enterosit benzeri Caco-2 hücrelerine ve Matrigel membran preperatlarına bağlanmasını engellediği in vitro olarak gösterilmiştir (Todoriki ve ark 2001, Horie ve ark 2002). Bu nedenle *L. crispatus* suşlarının intestinal ve vajinal probiyotik olarak kullanılmaktadır (Horie ve ark 2002).

Lactobacillus crispatus vajen mikrobiyotasında baskın laktobasil türüdür. *L. crispatus*'un daha çok BV negatif kadınlarda baskın olduğu gösterilmiştir (El Aila ve ark 2009, Zhou ve ark 2009, Forney ve ark 2010, Gajer ve ark 2012, Smith ve ark 2012, Srinivasan ve ark 2012, Drell ve ark 2013).

Normal vajen mikrobiyotasından BV mikrobiyotasına geçişi inceleyen az sayıdaki çalışmada, *L. crispatus*'un baskın olduğu mikrobiyotanın *L. iners*'in baskın olduğu mikrobiyotaya göre daha kararlı olduğu gösterilmiştir (Mitchell ve ark 2009, Verstraelen ve ark 2009, Gajer ve ark 2012). *L. crispatus*'un baskın olduğu vajen mikrobiyotası doğrudan BV mikrobiyotasına değişmek yerine *L. iners*'in veya karışık laktobasillerin baskın olduğu mikrobiyotaya kaydığı belirlenmiştir (Gajer ve ark 2012).

1.3.1.2. *Lactobacillus iners*

L. iners ilk kez insan kaynaklı idrar, vajinal akıntı, endometriyal ve servikal örneklerden izole edilerek tanımlanmıştır (Falsen ve ark 1999). Gram pozitif basil şeklindeki katalaz ve oksidaz negatif fakültatif anaerob bu bakteriler, boyalı preperatlarda tek tek veya kısa zincirler halinde görülürler. Anaerobik koşullarda 24 saatlik inkübasyonun ardından kanlı besiyerinde ve %1,5 NaCl içeren besiyerinde, 30ºC ve 40ºC'de üreyebililirken; de Man, Rogosa ve Sharpe (MRS) agarda ve %3 NaCl içeren besiyerinde ve de 15ºC'de üreyemezler. Koloniler 1 mm'den küçük çapta, düzgün, yuvarlak, saydam ve pigmentsizdir. Eski kültürler pişmiş yumurta şeklinde olabilir. Spor oluşturmazlar ve hareketsizdirler (Falsen ve ark 1999).

Falsen ve ark.(1999) sekanslama ve SDS-PAGE analizi ile daha önce bilinmeyen bakterinin filogenetik olarak *Lactobacillus* cinsinin *L. delbrueckii* grubuna (rRNA grup I Lactobacillus) ait ve *L. gasseri* ve *L. johnsonii* ile ilişkili olduğunu belirlemişler (Bu iki tür ile 16S rRNA sekans sapması >%4'ün üzerindedir) ve biyokimyasal özelliklerini göz önünde tutarak bu bakteriye hareketsiz, tembel anlamında *Lactobacillus iners* adını vermişlerdir (Falsen ve ark 1999).

L. iners AB-1'in genom sekanslaması ile *L. iners*'in bu güne kadar belirlenen en küçük laktobasil olduğunu ve diğer intestinal ve ürogenital *Lactobacillus* türlerinden oldukça farklı özellikler gösterdiğini belirlenmiştir (Macklaim ve ark 2011). Bir çalışmada, farklı kadınlardan toplanan *L. iners* sekanlarının homojen sonuçlar vermesi, bu tür içinde suş çeşitliliğinin olmadığı sonucuna varılmasına neden olmuştur (Zhou ve ark 2007).

Lactobacillus iners glikoz veya maltozdan asit üretebilir ancak asakkorilitik olduğu için L-arabinoz, D-arabinitol, siklodekstrin, glikojen, N-asetilglikozamin, laktoz, mannitol, melezitoz, melibiyoz, metil P-D-glikopiranozid, pullulan, rafinoz, riboz, ramnoz, sorbitol, sükroz, tagatoz, trehaloz veya D-ksilozdan asit üretemez. Bütün suşlar alanin-fenilalanin-prolin arilamidaz, esteraz C4, alfa-glikozidaz, lösin arilamidaz ve fosfoamidaz aktivitelerine sahiptir. Alkalin

fosfotaz, arjinin dihidrolaz, kimotripsin, alfa-fukozidaz, alfa-galaktozidaz, j3-galaktozidaz, j3-galakturonidaz, j3-glikozidaz, j3-glikuronidaz, glisil-triptofan arilamidaz, alfa-mannozidaz, j3-mannozidaz, lipaz C 14, tripsin ve üreaz aktiviteleri yoktur. Hippuratı hidrolize ederler ancak eskülin ve jelatini hidrolize edemezler. Voges-Proskauer negatiftirler ve nitratı indirgeyemezler (Falsen ve ark 1999).

Son yıllara kadar *L. crispatus, L. gasseri* ve *L. jensenii*'nin kültürlerde en sık üreyen laktobasil türleri olması nedeniyle sağlıklı vajen mikrobiyotasında bu türlerin baskın olduğu kabul edilmekte ve laktik asit üretmeleri nedeniyle bu türlerin vajinal kanalı patojen bakterilerin kolonizasyonuna karşı koruduğu öne sürülmekteydi (Jakobsson ve Forsum 2007, Wagner ve Johnson 2012). Bakteriyel vaginoziste en sık soyutlanan laktobasil olması, *L. crispatus* ve *L. jensenii* ile karşılaştırıldığında daha az H_2O_2 üretmesi nedeniyle *L. iners*'in, BV etiyolojisinde rolü olduğu iddia edilmiştir (Verstraelen ve ark 2009, Bohbot ve Lepargneur 2012). Ancak kültürden bağımsız moleküler tekniklerle yapılan çalışmalarda *L. iners*'in önceden bilinenin aksine hem normal vajen mikrobiyotasında hem de disbiyotik durumlarda vajen mukozasını kolonize ettiği gösterilmiştir (van de Wijgert ve ark 2014). Bu nedenle *L. iners*, normal vajen mikrobiyotasının bir üyesi olduğu kabul edilmektedir (Srinivasan ve Fredricks 2008, Spear ve ark 2011). BV'li kadınlarda ve BV tedavisi sonrasında diğer türlerin aksine vajen mukozasında ısrarcı olması, *L. iners*'in vajen mikrobiyotasının BV sonrası yeniden kurulması aşamasında önemli olabileceğini göstermektedir (Ferris ve ark 2007).

1.3.1.3. *Lactobacillus gasseri*

L. gasseri, 1980'den önce, karbonhidrat kullanımı, ürettiği laktik asit izomeri gibi klasik taksonomik özelliklerinin aynı olduğu *L. acidophilus*'tan ayırt edilemediği için *L. acidophilus* olarak sınıflandırılmaktaydı (Azcarate-Peril ve ark 2008). *L. acidophilus* grup ilk olarak 1900'da Moro tarafından infant dışkısından izole edilmiş ve "*Bacillus acidophilus*" olarak adlandırılmıştır. Daha sonra *B. acidophilus Lactobacillus* cinsi içine alınmıştır. 1980 yılında *L. gasseri*

DNA/DNA hibridizasyon paterni ile *L. acidophilus*'tan ayrılarak, *Lactobacillus* türlerinin laktat dehidrogenaz üretimini inceleyen bilim adamı Francis Gasser'in anısına *Lactobacillus gasseri* olarak yeniden adlandırılmıştır (Gasser ve Sebald 1966).

L. gasseri, L. acidophilus complex grup B içerisinde yer alır ve grup A'dan genetik tanımlama ile ve majör yüzey tabaka proteinlerin (S-layer proteins) olmaması ile ayrılır. *Acidophilus complex* içerisinde bulunan bağımsız ve tutarlı üç genomik grup *L. johnsonii, L. gasseri* ve *L. acidophilus*'tur. Ancak *L. gasseri, L. johnsonii*'ye *L. acidophilus*'tan daha yakındır. Aynı tür içindeki suşlar veya yakından ilişkili türler arasındaki genomik farklılığın sebebi mobil DNA elemanları ve çevreye uyum sağlamak için gerekli olan ve lateral gen transferi ile edinilebilen değişken bölgelerdir (Selle ve Klaenhammer 2013).

L. gasseri zorunlu sakkarolitik, homofermentatif bir mikroorganizmadır. Optimum üreme sıcaklığı 35-38°C'dir. Yuvarlak uçla sonlanan, 0.6-0.8 μm eninde, 3-5 μm boyunda küçük, basil şeklindedir. *L. gasseri* infantların gastrointestinal yollarında en erken kolonize olan bakteriler arasında yer alır (Carroll ve ark 2007, Wall ve ark 2007). *L. gasseri* insanda gastrointestinal yolları, ağız boşluğunu ve vajeni kolonize eden otokton bir bakteridir. İnsan sağlığı üzerinde olumlu etkilerinin olması nedeniyle probiyotik olarak kullanım alanı bulunmaktadır (Azcarate-Peril ve ark 2008).

1.3.1.4. *Lactobacillus jensenii*

L. jensenii, diğer laktobasil türleri gibi anaerobik Gram pozitif bir basildir. Optimum üreme koşulları için 45ºC'de folik asit, vitamin B12, nikitonik asit ve kalsiyum pantotenata ihtiyaç duyar. 15ºC'de üreyemez. Diğer türlerden arjinini hidrolize etmesi, D-laktat üretmesi, galaktoz, salisin, eskülin, maltoz amigdalin, sükroz, riboz ve sellobiyozu hidrolize etmesi; laktoz, melesitoz, mannitol, sorbitol, arabinoz ve ksilozu hidrolize edememesi ile ayrılır (Gasser ve ark 1970).

Vajen mikrobiyotasının doğal bir üyesi olan *L. jensenii* bakteriyemi ve endokardite neden olabilen fırsatçı bir patojen olarak da karşımıza çıkabilmektedir (Suarez-Garcia ve ark 2012).

1.3.2. Gardnerella vaginalis

G. vaginalis filogenetik olararak *Actinobacteria* şubesi; *Actinobacteridae* sınıfı; *Bifidobacteriales* takımı; *Bifidobacteriaceae* ailesi; *Gardnerella* cinsine aittir. Hareketsiz, fakültatif anaerob Gram pozitif 1-1.5 µm çapında küçük kokobasil şeklinde bir bakteridir. Duvarı Gram pozitif yapıda olmasına rağmen çok ince olması nedeniyle mikroskop altında daha çok Gram negatif veya Gram değişken olarak görülür (O'Donnell ve ark 1984, Sadhu ve ark 1989). Ekzopolisakkarid tabakası ve pilisi vajen epitel hücrelerine tutunmasını sağlar. Hücre duvarı hekzadekanoik asit ve oktadekanoik asit ile doymuş ve doymamış yağ asitlerinin düz zincirleri ile beraberinde alanin, glisin, glutamik asit ve lizinden oluşur (O'Donnell ve ark 1984).

G. vaginalis katalaz, oksidaz, üreaz üretmez. Eskülin ve jelatini parçalamaz, nitratı indirgemez, arjinin, lizin ve ornitini parçalayamaz. Çoğunlukla beta hemoliz yapar, hippurat ve nişastayı genellikle hidrolize eder. *G. vaginalis* kolistin, nalidiksik asit ve gentamisine dirençlidir (Taylor-Robinson 1984). Üremesi için %5 CO_2'e ihtiyaç duyar. *G. vaginalis* çikolata besiyerinde küçük, yuvarlak, konveks, gri koloniler şeklinde ürer. Kolistin-oksolinik asitli kanlı besiyeri *G. vaginalis* için seçici besiyeridir. *G. vaginalis* üremek için B vitamini, pürin, pirimidin ve fermentleyebileceği bir karbonhidrata ihtiyaç duyar (Dunkelberg 1977, Harwich ve ark 2010).

G. vaginalis vaginolizin adında sadece insan epitel hücrelerinde porlar oluşturan bir toksin üretir (Gelber ve ark 2008). Sıklıkla proteaz ve siyalidaz enzimleri bulunur (von Nicolai ve ark 1984, Harwich ve ark 2010, Yeoman ve ark 2010, Santiago ve ark 2011)

Gardnerella vaginalis'in bugünkü şekliyle tanımlanması uzun bir sürecin sonunda olmuştur. *G. vaginalis* ilk kez prostatitli bir erkek ve servisitli bir

kadından Gram negatif küçük basiller şeklinde soyutlanmış ve *Haemophilus* üyelerine benzetilmiştir (Leopold 1953). İki yıl sonra, Gardner ve Dukes nonspesifik BV olgularıyla ilişkili aynı özellikte bir bakteri tanımlamışlar ve bakteriyel vaginitin etkeni olarak gösterdikleri bu bakteriyi *Haemophilus vaginalis* şeklinde adlandırmışlardır (Gardner ve Dukes 1955). Ancak X ve Y faktörlerine ihtiyaç duymadan üreyebildiği için taksonomi konusunda bilim adamları çelişkiye düşmüştür (Edmunds 1962, Reyn ve ark 1966, Dunkelberg ve McVeigh 1969, Criswell ve ark 1971). Zinnerman ve Turner adlı araştırıcılar, optimal üreme şartları sağlandığında *H. vaginalis*'in, mikroskop altında Gram pozitif polar granülleri olan lobut şeklinde ve Çince karakterlere benzeyen bir görüntü sergilemesi nedeniyle *Corynebacterium* cinsine dahil edilmesi gerektiğini savunmuşlar ve isminin *Corynebacterium vaginale* olarak değiştirilmesini önermişlerdir (Zinnemann 1963).

Uzun yılların ardından taksonomik çalışmalar *H. vaginalis*'in ne *Haemophilus* ne de *Corynebacterium* cinsine ait özellikler taşımadığını, bu cinsin benzersiz fenotipik, biyokimyasal ve genetik özellikleri nedeniyle *Gardnerella* adını verdikleri yeni bir cinse dahil edilmesini ve *Gardnerella vaginalis* şeklinde yeniden adlandırılmasını teklif etmişlerdir (Greenwood 1980).

Bakteriyel vaginoziste en sık belirlenen ve biyofilm yapması nedeniyle BV etiyolojisinde en başta sorumlu tutulan *G. vaginalis*, sağlıklı kadınların ve erkeklerin ürogenital örneklerinde de belirlenebilmektedir. Bu nedenle *G. vaginalis* genitoüriner kanal mikrobiyotasının bir parçası olarak kabul edilmektedir. Bakteriyel vaginozisin mikroskopik tanısında vajen epiteline tutunan biyofilm içindeki bakterilerin büyük kısmını *G. vaginalis* oluşturmaktadır. Bu görüntüye ipucu hücreleri (clue cell) adı verilmektedir. Taşıyıcı erkekler asemptomatik kalmakta mikroorganizmanın cinsel ilişki ile bulaşmasına neden olabilmektedir (Dunkelberg 1977, Lam ve Birch 1991, Smith ve ark 1992, Jarosik ve ark 1998, Saunders ve ark 2007).

1.3.3. *Mobiluncus mulieris*

Actinobacteria şubesi, *Actinobacteria* sınıfı, *Actinobacteridae* alt sınıfı, *Actinomycetales* takımı, *Actinomycineae* alt takımı, *Actinomycetaceae* ailesinden *Mobilincus* cinsine aittir. *Mobiluncus mulieris* birden fazla subpolar flagellaya sahip, hareketli, kıvrık Gram negatif veya Gram değişken basildir. Katalaz ve oksidaz negatiftir. Hippuratı hidrolize edemez. Arjinin fermentasyonu sonucu süksinik asit veya asetik asit üretir; pH değerleri 5.5-6.5 iken zayıf, <5.5 iken kuvvetli sakkarolitiktir. Üremek için 37-42^{o}C'ye ihtiyaç duyar, 45^{o}C'de üreyemez. Kolonileri düzgün kenarlı, küçük, renksiz ve saydamdır. Elektron mikroskop görüntüleri dış membrandan yoksun, çok katlı Gram pozitiflerin duvarına benzeyen bir duvar yapısı olduğunu ortaya koymaktadır. Peptidoglikan tabakasının çok ince olması nedeniyle Gram negatif olarak boyanır (Spiegel 1984).

Vibrio benzeri bakterilerin vajendeki varlığı 1895'te bilinmekteydi ancak bu bakteriler kadın genital kanalından ilk kez Curtis tarafından 1913'te izole edilmiştir (Spiegel 1984). Prevot 1940 yılında Curtis'in *Vibrio*'sunu *Vibrio mulieris* şeklinde tanımlamış, Moore ise 1954'te anaerobik ortamda daha iyi üreyen beş suş tanımlamıştır (Spiegel 1984). Daha sonra seruma ihtiyaç duyan 18 "*vibrion* succinoproducteur" suşu tanımlanmış ve bu suşlar iki gruba ayrılmıştır: Glukozu fermentlemeyen, nitrat redüktaz aktivitesi değişken 2-3 µm büyüklüğünde olanlara grup VSP 1; glukozu fermentlemeyen, nitratı indirgemeyen 5-6 µm büyüklüğünde olanlara grup VSP 2 adı verilmiştir. Hareketli ve kıvrık bu basillerin ortak noktası BV ile ilişkili olmalarıydı (Spiegel 1984). Bu nedenle fenotipik özellikleri birbirine benzeyen yukarda bahsi geçen suşların *Mobiluncus* adında yeni bir cinse dahil edilmesi önerilmiştir (Spiegel 1984).

M. mulieris, Mobiluncus curtusii'den hücrelerinin daha büyük olması, üreme koşullarında arjinin desteğinden etkilenmemesi, arjininden amonyak üretmemesi, hippuratı hidrolize etmemesi, güçlü CAMP reaksiyonu vermesi, asidik pH'da glikojenden asit üretmesi ile ayrılır (Spiegel 1984).

1.3.4. *Atopobium vaginae*

A. vaginae, Actinobacteria şubesinden, *Coriobacteriales* takımından, *Coriobacteriaceae* ailesinden ve *Atopobium* cinsine ait bir bakteridir. *Atopobium* cins adı, ilk kez *Lactobacillus minutus, Lactobacillus rimae* ve *Streptococcus parvulus* için önerilmiştir (Collins ve Wallbanks 1992). *Atopobium* türleri filogenetik olarak *Actinomycete* ailesi ile akrabadır (Rodriguez Jovita ve ark 1999). *Atopobium* cinsinin en yakın filogenetik akrabası *Coriobacterium glomerans*'tır (Stackebrandt ve ark 2013). *Atopobium* türlerinin bazıları insanların gingivalarından (*Atopobium rimae, Atopobium parvulum*), dental (*Atopobium rimae, Atopobium parvulunz*), abdominal ve pelvik abselerden (*Atopobium minutum*) soyutlanmıştır (Rodriguez Jovita ve ark 1999). Anaerobik, laktik asit üreten Gram pozitif eliptik kok veya basil şekilli bakterilerdir. Gram pozitif bakterilerin *Actinomycete* dalıyla ilişkili olmalarına rağmen, fenotipik olarak ayırıcı özelliği olmaması nedeniyle düşük G+C içeriği olan laktik asit üreten bakterilerle karıştırılabilir (Rodriguez Jovita ve ark 1999).

A. vaginae, ilk kez 1999'ta vajinal örneklerden soyutlanmıştır (Rodriguez Jovita ve ark 1999). Bakteri hücreleri tek tek veya kısa zincirler halinde küçük, uzun Gram pozitif koklar halinde görülür. Fakültatif anaerobdur; 37^{o}C'de kanlı besiyerinde toplu iğne başı büyüklüğünde küçük koloniler oluşturur. Mannoz ve rafinozdan asit oluşturmaz. Arjinin dihidrolaz, arjinin arilamidaz, asit fosfataz, glisin arilamidaz, histidin arilamidaz, lösin arilamidaz, prolin arilamidaz ve serin arilamidaz aktiviteleri vardır. Zayıf fenilalanin arilamidaz aktiviteleri olabilir. Alanin arilamidaz, alfa-arabinozidaz arilamidaz, sistin arilamidaz, kimotripsin, ester lipaz C8, esteraz C4, alfa-fukozidaz, alfa-galaktozidaz, P-galaktozidaz, P-galaktozidaz 6-fosfat, alfa-glikozidaz, P-glikozidaz, glutamik asit dekarboksilaz, glutamil glutamik asit arilamidaz, P-N-asetil glukozaminidaz, lipaz C14, piroglutamik asit arilamidaz, tirozin arilamidaz, tripsin ve üreaz aktiviteleri yoktur. İndol negatiftir, nitratı indirgemez, jelatin ve eskülini hidrolize etmez. Nükleik asitlerinde G+C içeriği %44 mol'dür (Rodriguez Jovita ve ark 1999).

1.3.5. *Prevotella* spp.

Önceleri *Bacteroides* cinsi altında sınıflanan *Prevotella* türleri, daha sonra *Bacteriodetes* şubesi, *Bacteriodetes* sınıfı, *Bacteriodales* takımı, *Prevotellaceae* ailesine dahil edilmiştir.

Prevotella cinsi hareketsiz, tek tek duran Gram negatif anaerob basil veya kokobasildir. Üreme döngüleri sırasında çeşitli şekillerde ortaya çıkabilir. Endospor oluşturmaz. *Prevotella melaninogenica* ve *Prevotella asaccharolytica* hemin derivatifleri nedeniyle koyu kahverengi boyanabilir. *Prevotella intermedia* biyofilm oluşturabilir (Finegold 1996). *Prevotella* genellikle zorunlu anaerobdur. *P. melaninogenica* gibi bazı türleri hemin ve K vitaminine ihtiyaç duyar. *Prevotella* cinsi beta laktamaz üretebilmektedir. Bu nedenle beta laktam grubu antibiyotiklere karşı direnç geliştirebilir (Finegold 1996). *Prevotella* türleri insanda oral boşluk, gastrointestinal ve vajinal kanal mikroflorasında bulunur (Avgustin ve ark 2001). Periodontit ve gingivit gibi periodontal rahatsızlıklara, abselere ve kadın genital kanal infeksiyonlarına neden olabilen oportunistik patojendir (Finegold 1996).

Prevotella türleri kollajenaz, nöraminidaz, deoksiribonükleaz, heparinaz ve bir takım proteazlar üretir (Finegold 1996). *P. intermedia* oral kavitede IgA1 ve IgA2'yi parçalayan IgA proteazlar salgılar. Bu enzimler *P. intermedia*'nın çoğalarak periodontit ve gingivit gibi infeksiyonların oluşmasına zemin hazırlar (Marcotte ve Lavoie 1998).

Prevotella türleri vajinal kanalda sıkça tespit edilir ve BV ile anlamlı olarak ilişkilidir (Ling ve ark 2010, Zozaya-Hinchliffe ve ark 2010, Datcu 2014). *Prevotella bivia* BV'li olgulardan en sık soyutlanan *Prevotella* türüdür ve yüksek LPS üretir (Aroutcheva ve ark 2008). Bakteriyel vaginozisli kadınların idrarlarında *Megasphaera* tip 1 ile birlikte *Prevotella*'nın kantitatif tespit edilmesi BV tanısı için en doğru sonuçları vermiştir (Datcu ve ark 2014). Normal üretral flora ile ilgili çalışmalar az sayıda olmakla beraber *P. melaninogenica*'nın eksternal genitallerde varlığı bildirilmiştir (Finegold 1996). Büyükbaş ve küçükbaş hayvanların rumen ve barsaklarında en fazla bulunan bakteriler

arasında yer alan *Prevotella* türleri, bazı otçul hayvanların karbonhidrat sindirimine yardımcı olur (Finegold 1996).

1.3.6. Bacterial Vaginosis Associated Bacterium1, 2, 3 (BVAB1, 2, 3)

BVAB1, BVAB2 ve BVAB3, kültürlerde üreyen bakterilerin herhangi biriyle filogenetik bağı olmayan *Clostridiales* takımından üç bakteridir (Fredricks ve ark 2005). Bu bakteriler BV için yüksek özgüllük (>%90) gösterdikleri için ve bilinen bir bakteri ile yakın taksonomik ilişkileri olmadığı için Bacterial Vaginosis associated bacterium 1, 2 ve 3 olarak adlandırılmıştır (Fredricks ve ark 2005, Fredricks ve ark 2007). BV pozitif hastaların >%80'inde BVAB2 varlığı gösterilmiştir (Fredricks ve ark 2005). BVAB1 ve BVAB3 ise BV için yüksek özgüllük göstermelerine rağmen (>%96), BV'li hastaların az bir kısmında belirlenmiştir. Araştırıcılar, genellikle birlikte bulunmaları dolayısı ile BVAB1 ve BVAB3'ün her ikisinin birden tespitinin, BV tanısı için kullanılan testlerin performansını artırmadığını görmüşlerdir. Buna karşın BVAB1 ve BVAB2 veya BVAB2 ve BVAB3'ün birlikte tespit edilmesinin, BV tanısının duyarlılığını %80'in üstüne çıkarırken özgüllüğü değiştirmediğini (>%92) bildirmişlerdir (Fredricks ve ark 2007).

1.3.7. *Leptotrichia*

Leptotrichia cinsi *Fusobacteria* şubesi, *Fusobacteriales* takımı, *Leptotrichiaceae* ailesine aittir. *Leptotrichiaceae* ailesi fakültatif veya zorunlu anaerob, hareketsiz Gram negatif basildir. Karbonhidratları fermentleyerek laktik, asetik, formik veya süksinik asit üretir. Bazı türleri üremek için serum veya kana gereksinim duyar. İnsan ağız boşluğu ve ürogenital kanalda bulunurlar. Bazı türleri patojeniktir ve özellikle bağışıklığı baskılanmış kişilerin klinik örneklerinden soyutlanabilir. *Leptotrichia, Sneathia, Streptobacillus* ve *Sebaldella* cinsleri *Leptotrichiaceae* ailesi içerisinde yer alır (Hanff ve ark 1995).

Leptotrichia 0.5-3.0 x 5-15 µm büyüklüğünde, düz veya kıvrık, uçları yuvarlak olarak sonlanabilen hareketsiz, Gram negatif basildir. Genellikle çiftler, zincirler veya ayrık filamentler şeklinde görülür. Dallanma göstermez, lobut oluşturmaz.

İlk izolasyon için anaerobik koşullar gerekse de subkültürleri, %5–10 CO_2 varlığında aerotoleran olarak üreyebilir. Optimal üreme için 35–37°C ısıya ve pH 7.0–7.4 değerlerine ihtiyaç duyar. Kolonileri 2-3 mm büyüklüğünde, hemolizsiz, düzgün, konveks, renksizdir. Glikozu fermentleyerek laktik asit üretir. Hidrojen sülfür ve indol üretmez. Nitratı indirgeyemez. Birincil habitatları insanların ağız boşluğudur. Üreogenital alanda da bulunur. DNA G+C içerikleri %25–29 mol'dür (Hanff ve ark 1995).

Leptotrichia türleri içinde biyokimyasal reaksiyonlar ve hücresel yağ asiti içeriği bakımından farklılıklar görülebilir. En iyi bilinen üyesi *Leptotrichia buccalis,* ilk kez 1939'da Thjötta tarafından *Fusobacterium nucleatum* ile ilişkili Gram negatif bir bakteri olarak tanımlanmıştır. Daha sonra *Lactobacillus* cinsi ile ilişkili Gram pozitif bir bakteri olduğu düşünülse de 1969'da elektron mikroskoptaki bakteri duvar yapısının ve endotoksin ürettiğinin gösterilmesi ile Gram negatif bir bakteri olduğu kesinlik kazanmıştır. Glikoz fermentasyon ürünü olarak başlıca laktik asit üretmesi ve 16S rRNA sekans analizi *Leptotrichia*'yı *Fusobacterium* gibi çok yakın ilişkili diğer cinslerden ayırır. *L. buccalis* 1995'e kadar tanımlanan tek türdür. *Leptotrichia sanguinegens* olarak bilinen yakın akrabası 2001 yılında *Sneathia* cinsine *Sneathia sanguinegens* olarak transfer edilmiştir (Collins ve ark 2001).

Vajinal sıvıda *Leptotrichia* varlığının gösterilmesi BV tanısı için yüksek özgüllüğe sahiptir (Fredricks ve ark 2005).

1.3.8. *Sneathia*

Sneathia pleomorfizm ve filamanlı yapı sergileyebilir. Anaerobik olmasına rağmen, bazı suşlar CO_2'li ortamda zayıf üreme gösterebilir. Glikozu fermentleyerek laktik, formik ve az miktarda asetik asit üretir. Riboz ve maltozu kullanamaz. Üreme 35–37°C'de serum veya kan varlığında gerçekleşir. Katalaz ve oksidaz negatiftir. Eskülin ve hippuratı hidrolize eder, nişastayı hidrolize edemez. İndol üretemez. Voges-Proskauer testleri negatiftir. Nitratı indirgeyemez. DNA G+C içerikleri %22–25 mol'dür (Harwich ve ark 2012).

Hanff ve ark.(1995) postpartum ateşi olan dört obstetri hastasının, iki yenidoğanın ve 100 yaşındaki bir kadın hastanın kan kültürlerinden olağan dışı Gram negatif bir basil izole ettiğini raporlamıştır. Araştırıcılar zor üreyen bu bakterinin *Leptotrichia* cinsine mensup *L. sanguinegens* olduğu düşünmüştür. Collins ve ark.(2001) amniyotik sıvıdan ve kandan benzer suşlar izole etmiştir. Ancak fenotipik ve filogenetik özellikleri göz önünde tutulduğunda bu izolatların *L. sanguinegens* ile aynı olduğunu ve *Sneathia* adlı yeni bir cinsin altında *Sneathia sanguinegens* olarak adlandırılmalarını önermiştir (Collins ve ark 2001). *S. sanguinegens* hücre morfolojisi, üreme gereksinimleri ve biyokimyasal profili ile kolayca tanımlanabilir. Beta glukorunidaz aktivitesinin olması ile *Streptobacillus moniliformis*'ten; kimotripsin ve prolin arilamidaz üretmesi ile *S. sanguinegens*'ten; üremek için serum veya kana ihtiyaç duyması, beta glikorunidaz üretmesi, alfa glikozidaz ve beta glikozidaza sahip olmaması ile *L. buccalis*'ten ayrılır (Collins ve ark 2001).

2. GEREÇ ve YÖNTEM

2.1. Örneklerin Toplanması

Bu çalışmada Ocak-Haziran 2014 tarihleri arasında, Konya ilinde, ilk akım idrar örnekleri üretra sürüntüsünü temsilen (Dong ve ark 2011) 150 sağlıklı erkek gönüllüden toplandı. Yaşları 18-60 arasında değişen gönüllülere idrar öneklerini nasıl verecekleri sözlü olarak ayrıntılı bir şekilde anlatıldı. Bütün gönüllülerden sözlü ve yazılı onamları alındı. Cinsel ilişki ve genel sağlık durumlarını sorgulayan kısa bir anket formu uygulandı. İdrar miktarı az olanlar (<20 ml), son bir ay içinde 3 günden fazla antibiyotik kullananlar, herhangi bir üriner sistem patolojisi ve infeksiyonu olanlar çalışma dışı bırakıldı. Onam ve anket formları ekler bölümünde verildi.

2.2. Kültür

Örneklere patojen bakteri üremesini değerlendirmek için konvansiyonel kültür yöntemi uygulandı. On dakika içerisinde %5 koyun kanlı agar (Biomerieux, Fransa) ve Eosin Methylen Blue (EMB) agara kalibre öze ile çizgi ekimleri yapıldı. Besiyerleri 35°C'de aerobik ortamda inkübasyona bırakıldı. 18-24 saat sonra üreme açısından değerlendirildi.

2.3. Gram Boyma

İdrar örnekleri, kültür ekimleri yapıldıktan sonra Gram yöntemi ile boyandı. Steril pastör pipeti ile idrar örneğinden bir damla, lam üzerine bırakılıp kurutuldu. Aynı örnek, üzerine tekrar bir damla idrar damlatılarak kurutuldu ve alevden geçirilerek tespit edildi. Ardından PreviColor Gram Boyama Cihazında (Biomerieux, Fransa) boyanarak ışık mikroskobunda değerlendirildi.

2.4. Örneklerin Saklanması

İdrar örnekleri, kültür ekimi ve Gram boyamaları yapıldıktan sonra 15 ml'lik steril falkon tüplerine alındı. DNA izolasyonu yapılana kadar -80ºC'de saklandı.

2.5. DNA İzolasyonu

Derin dondurucuda saklanan idrar örnekleri oda ısısına getirildi. Örnekler 4000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi ve süpernatant pipetlenerek atıldı. Dipteki çökelti bir miktar idrar ile resüspanse edildi. Santrifüjleme işlemi 13000 rpm'de 10 dakika tekrarlandı. Üzerine %20'lik lizozim çözeltisinden 200 µl eklenerek vortekslendi ve 37ºC'de bir saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra ticari bir DNA izolasyon kiti (Qiagen, Almanya) kullanılarak üretici firma önerileri doğrultusunda izolasyon işlemi aşağıdaki şekilde yapıldı:

1. İdrar çökeltisi-lizozim içeriğine 180 µl ATL solüsyonu ve 20 µl proteinaz K eklendi.
2. Vorteks ve kısa spin işleminden sonra 56ºC'de 1-3 saat inkübe edildi. İnkübasyon süresince yarım saat aralıklarla vorteksleme işlemi yapıldı.
3. İnkübasyon tamamlandıktan sonra örnekler vortekslendi ve kısa spin yapıldı.
4. Üzerine 200 µl AL solüsyonu eklendi, vorteks ve ardından kısa spin yapılarak 70ºC'de 10 dak. inkübe edildi.
5. İnkübasyondan sonra üzerine 200 µl etanol eklendi.
6. Çözeltiler 2 ml hacimli tüp içine yerleştirilmiş spin kolonlara aktarıldı.
7. Spin kolonlar 8000 rpm'de bir dakika santrifüj edildi.
8. Spin kolonların tüpleri değiştirildi.
9. Üzerlerine 500 µl AW-1 solüsyonu eklendi.
10. 8000 rpm'de bir dakika santrifüj edildi.
11. Spin kolonlar yeni tüpleri değiştirildi.
12. AW-2 solüsyonundan 500 µl eklendi.
13. 14000 rpm'de üç dakika santrifüj edildi.
14. Spin kolonlar temiz tüplere aktarılarak üzerlerine 200 µl AE solüsyonu eklendi.
15. Oda ısısında beş dakika bekletildi.

16. 8000 rpm'de bir dakika santrifüj edildikten sonra DNA'nın ependorf tüplerinde AE solüsyonu içinde çözünmesi sağlandı.
17. DNA örnekleri 100 µl olacak şekilde iki kısma ayrılarak PCR işlemi uygulanıncaya kadar -20^{o}C'de saklandı.

2.6. PCR Miksinin Hazırlanması

PCR çalışmasında bakteri 16S rRNA Bac27F, EUB338R-I primeri, BV ile ilişkili 12 bakterinin tür düzeyindeki (*L. crispatus, L. jensenii, L. gasserii, L. iners, G. vaginalis, A. vaginae,* BVAB1, BVAB2, BVAB3, *M. mulieris, P. lacrimalis, Megasphaera* tip 1) ve beş bakterinin cins düzeyindeki primerleri (*Lactobacillus* spp., *Peptoniphilus* spp., *Prevotella* spp., *Leptotrichia/Sneathia* spp. ve *Corynebacterium* spp.,) dizayn ettirildi (Metabion, Almanya). Bu primer dizileri ve baz çifti (bp) uzunlukları **Çizelge 2.6.1.**'de verildi.

İdrar örneklerinden izole edilen DNA için PCR miksi (Nanohelix, Güney Kore) hazırlandı **(Çizelge 2.6.2)**. Toplam hacim 50 µl olacak şekilde 37 µl su ve 3 µl DNA eklendi. Ardından PCR işlemi uygulandı.

Çizelge 2.6.1. Hedef bakterilere ait primer dizileri ve amplikon büyüklükleri.

Hedef	Primer	Sekans (5′-3′)	Amplikon büyüklüğü (bp)	Kaynak
Bakteri ortak gen bölgesi	Bac27F EUB338R-I	AGAGTTTGATCCTGGCTCAG GCTGCCTCCCGTAGGAGT	312	(Ling ve ark 2010)
***Lactobacillus* spp**	LactoF LactoR	TGGAAACAGRTGCTAATACCG GTCCATTGTGGAAGATTCCC	232	(Byun ve ark 2004)
L.crispatus	L.crisp-452F L.crisp-1023R	CTTTGTATCTCTACAAATGGCACTA ACAGGGGTAGTAACTGACCTTTG	571	(Fredricks ve ark 2007)
L. iners	L.iners-453F L.iners-1022R	ACAGGGGTAGTAACTGACCTTTG ATCTAATCTCTTAGACTGGCTATG	569	(Fredricks ve ark 2007)
L. jensenii	LjensF LjensR	AAGTCGAGCGAGCTTGCCTATAGA CTTCTTTCATGCGAAAGTAGC	162	(Tamrakar ve ark 2007)
L. gasseri	LgassF LgassR	AGCGAGCTTGCCTAGATGAATTTG TCTTTTAAACTCTAGACATGCGTC	190	(Tamrakar ve ark 2007)
G. vaginalis	G.vag 644F G.vag 851R	GGGCGGGCTAGAGTGCA GAACCCGTGGAATGGGCC	207	(Fredricks ve ark 2007)
A.vaginae	Atop-442F Atop-1017R	GCAGGGACGAGGCCGCAA GTGTTTCCACTGCTTCACCTAA	575	(Fredricks ve ark 2007)
BVAB1	BVAB1-1019F BVAB1-1280R	GTATATTTTCTACGGAACACAGG TTTGCTCCGGATCGCTCCTT	261	(Fredricks ve ark 2007)
BVAB2	BVAB2-619F BVAB2-1024R	TTAACCTTGGGGTTCATTACAA AATTCAGTCTCCTGAATCGTCAGA	405	(Fredricks ve ark 2007)
BVAB3	BVAB3-999F BVAB3-1278R	TGCTTCGCCTCGCGACGTC AACTGCTTGGCTCGAGATTATC	279	(Fredricks ve ark 2007)
Leptotrichia/Sneathia	Lepto-395F Lepto-646R	CAATTCTGTGTGTGTGAAGAAG ACAGTTTTGTAGGCAAGCCTAT	251	(Fredricks ve ark 2007)
***Megasphaera* tip1**	MegaE-456F MegaE-667R	GATGCCAACAGTATCCGTCCG CCTCTCCGACACTCAAGTTCGA	211	(Fredricks ve ark 2007)
M. mulieris	Mobil-577F M.mulie-1026R	GCTCGTAGGTGGTTCGTCGC CCACACCATCTCTGGCATG	449	(Fredricks ve ark 2007)
Peptoniphilus spp	Pepton-1003F Pepton-1184R	GACCGGTATAGAGATATACCCT CACCTTCCTCCGATTTATCATC	181	(Fredricks ve ark 2007)
P. lacrimalis	P.lacri-999F Pepton-1184R	AAGAGACGAACTTAGAGATAAGTTTT CACCTTCCTCCGATTTATCATC	181	(Fredricks ve ark 2007)
***Prevotella* spp.**	PrevG1-468F PrevG1-857R	GTCCCTTATTGCATGTACCATAC GCCGCTAACACTAGGTGCTA	369	(Fredricks ve ark 2007)
***Corynebacterium* spp.**	Cory52F Cory1479R	GAACGCTGSCGGCGTGCTTA AC TTGTTACRRCTTCGTCCCAATCGCC	1427	(Tanner ve ark 1999)

Çizelge 2.6.2. PCR miksi için kullanılan malzemeler ve miktarları.

Malzeme	**1 örnek için**
10X Taq Buffer Solüsyonu	5 µl
dNTP	1 µl
PrimerF (10 pmol)	1 µl
PrimerR (10 pmol)	1 µl
5X Tune Up Solüsyonu	2 µl
ddH_2O	37 µl
Taq Polimeraz (2 IU)	0.5 µl
DNA	3 µl
TOPLAM	**50 µl**

2.7. PCR Yöntemi

Hedef bakterilere yönelik PCR işlemi ısı döngü cihazında (Labcycler, Almanya) Çizelge 2.7.1., 2.7.2., 2.7.3. ve 2.7.4'teki protokole göre çalışıldı.

Çizelge 2.7.1. *A. vaginae*, BVAB1, BVAB2, BVAB3, *Eggerthella*-benzeri bakteri, *L. iners*, *Leptotrichia/Sneathia*, *Megasphaera* tip 1, *Peptoniphilus* spp, *P. lacrimalis* ve *Prevotella* için yapılan PCR işlemine ait ısıl döngü diyagramı.

Basamak	**Döngü Sayısı**	**Sıcaklık**	**Süre**
Başlangıç Denatürasyonu	1	95ºC	10 dk
Denatürasyon	40	95°C	30 sn
Bağlanma		55°C	
Uzama		72°C	
Son Uzama	1	72°C	7 dk

Çizelge 2.7.2. *G. vaginalis* ve *M. mulieris* için PCR işlemine ait ısıl döngü diyagramı.

Basamak	Döngü Sayısı	Sıcaklık	Süre
Başlangıç Denatürasyonu	1	95ºC	10 dk
Denatürasyon	40	95°C	30 sn
Bağlanma		62°C	
Uzama		72°C	
Son Uzama	1	72°C	7 dk

Çizelge 2.7.3. *L.crispatus* için PCR işlemine ait ısıl döngü diyagramı.

Basamak	Döngü Sayısı	Sıcaklık	Süre
Başlangıç Denatürasyonu	1	95ºC	10 dk
Denatürasyon	40	95°C	30 sn
Bağlanma		54°C	
Uzama		72°C	
Son Uzama	1	72°C	7 dk

Çizelge 2.7.4. Bakteri 16S rRNA primeri, *Corynebacterium* spp., *Lactobacillus* spp., *L. jensenii* ve *L. gasseri* için PCR işlemine ait ısıl döngü diyagramı.

Basamak	Döngü Sayısı	Sıcaklık	Süre
Başlangıç Denatürasyonu	1	95ºC	10 dk
Denatürasyon	40	95°C	15 sn
Bağlanma		61°C	1 dk
Uzama		72°C	
Son Uzama	1	72°C	7 dk

2.8. Jelde Yürütme

Hedef bakterilere ait PCR ürünleri aşağıda açıklandığı şekilde hazırlanan jelde yürütülerek UV altında görüntülendi.

2.8.1. TBE (Tris-borate-EDTA=0.5X) Hazırlama

-10.8 gr Tris base (Sigma, Fransa)
-5.5 gr Borik asit (Sigma, Fransa)
-0.744 gr EDTA (Merck, Almanya)
-1000 ml ultra saf su
Yukarıdaki maddeler magnetik karıştırıcıda kaynatmadan ısıtılıp karıştırılak 1000 ml 1X TBE elde edildi. 1000 ml 1X TBE, 1000 ml ultra saf su ile tekrar karıştırılarak 2000 ml 0.5X TBE elde edildi.

2.8.2. Jel Hazırlama

Jel 0.5X TBE ile %1'lik olarak hazırlandı. Yürütme tankının tamamı için 200 ml 0.5X TBE içine 2 gr agaroz (Biomax, Almanya) eklenerek karıştırıldı. Agaroz ve TBE karışımı mikrodalga fırında kaynatmamaya dikkat edilerek eritildi. El yakmayacak dereceye kadar soğutulduktan sonra 10 µl SYBR Green (Sigma-Aldrich, ABD) eklendi. Hazır hale getirdiğimiz jel kalıbına hava kabarcığı oluşturmayacak şekilde döküldü. Jel donduktan sonra kalıptan çıkarılarak yürütme tankına yerleştirildi.

2.8.3. Loading Dye Hazırlama ve Jele Yerleştirilmesi

Derin dondurucuda (-20°C) saklanan stok 6XLoading Dye 1/5 oranında sulandırıldı. İki µl PCR ürünü ile 4µl 1/5'lik 6XLoading Dye ile karıştırılarak jeldeki yürütme kuyucuklarına pipetlendi. Marker olarak 100 bp DNA (Thermo Scientific, Litvanya) kullanıldı. PCR ürünü 120 Volt akım altında iki saat yürütüldü**.**

2.8.4. Jelde Yürüyen DNA'ların Görüntülenmesi

DNA bantları UV ışık altında GelLogic Imaging System (Kodak, ABD) kullanılarak görüntülendi. Pozitif PCR ürününün karşısına denk gelen ve moleküler standart ile uyumlu baz çiftine sahip örneklerin pozitif olduğu kabul edildi.

2.9. İstatiksel Analiz

L. crispatus, L. jensenii, L. gasserii, L. iners, G. vaginalis, A. vaginae, BVAB1, BVAB2, BVAB3, *M. mulieris, Peptoniphilus* spp., *P. lacrimalis, Megasphaera* tip1, *Leptotrichia/Sneathia, Corynebacterium* spp., *Provetella* G1 ve *Latobacillus* spp.'nin erkek üretrasındaki prevalansları yüzde olarak hesaplandı.

En yüksek prevalansa sahip *Peptoniphilus* spp., *G. vaginalis, L. iners,* ve *A. vaginae* bakterilerinin cinsel ilişki durumu ile ilişkisi ve birlikte pozitif saptanmalarının istatistiksel olarak anlamlı olup olmadığı ki-kare bağımsızlık testi ile analiz edildi. Ayrıca sorgulanan diğer değişkenler ile bu dört bakterinin ilişkisi lojistik regresyon analizi ile değerlendirildi.

İdrarlarda belirlenen bakteri sayısı ile cinsel ilişki durumu arasındaki ilişki Mann-Withney U testi ile analiz edildi.

Analizlerde istatistiki anlamlılık düzeyi $p<0.05$ olarak kabul edildi.

2.10. Etik Kurul Onayı

"Erkek üretrasında Bakteriyel Vaginozis ile İlişkili Bakterilerin Tanımlanması" adlı uzmanlık tez projesi, Selçuk Üniversitesi Girişimsel Olmayan Etik Kurulu 2013/277 sayılı karar sonucu onaylanmıştır ve Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeler Koordinatörlüğü tarafından 13102035 sayılı karar ile desteklenmiştir.

3. BULGULAR

Yüz elli gönüllü uygulanan anket formuna göre değerlendirildikten sonra, 36 kişi çalışma dışı bırakıldı. 114 gönüllüye ait idrar örneği DNA izolasyonu ve PCR için çalışmaya alındı.

Yaşları 19-60 arasında değişen gönüllülerin yaş ortalaması 29,38; modu 22; median değeri 29 idi. Gönüllülerin 49'u (%43) cinsel ilişki bakımından deneyimsiz, 65'i (%57) deneyimliydi. Elli beşi (%48) evli, 59'u (%52) bekardı. Altmış üç kişi (%55.3) sigara kullanmıyor, 51 kişi (%44.7) sigara kullanıyordu. Gönüllülerin tamamı sünnetliydi.

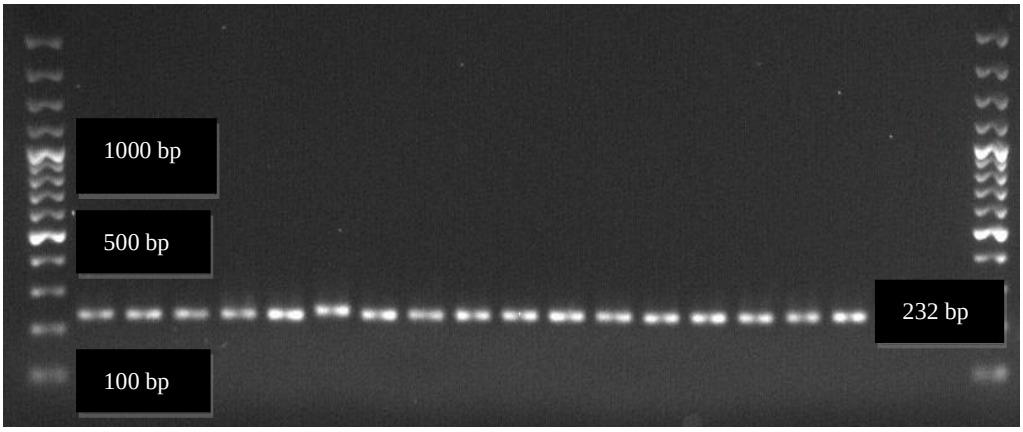
Örneklerin hiçbirinin Gram boyamasında lökosit ve bakteri görülmedi ve kültürlerin hiçbirinde patojen bakteri üremesi olmadı.

Yüz on dört gönüllünün idrar örneğinde PCR ile en az bir, en fazla altı bakteri belirlendi (Çizelge 3.1.). Cinsel ilişkide hiç bulunmamış bireylerde tespit edilen ortalama bakteri sayısı 2.1; cinsel ilişkide bulunmuş kişilerde tespit edilen ortalama bakteri sayısı ise 2.7 idi. Yapılan Mann-Withney U testine göre bu iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı (p=0.008).

Çizelge 3.1. İdrar örneklerinde belirlenen bakteri sayısının ve cinsel ilişki durumuna göre yüzdeleri.

Saptanan bakteri sayısı	Cinsel İlişki Deneyimsiz n (%)	Cinsel İlişki Deneyimli n(%)	Toplam n (%)
1	11 (22.4)	5 (7.7)	16 (14.0)
2	24 (49.0)	25 (38.5)	49 (43.0)
3	9 (18.4)	25 (38.5)	34 (29.8)
4	5 (10.2)	5 (7.7)	10 (8.8)
5	0	2 (3.0)	2 (1.8)
6	0	3 (4.6)	3 (2.6)
Toplam	**49 (43.0)**	**65 (57.0)**	**114(100)**

İdrar örneklerinde bakterilerin en sıktan en aza doğru prevalansları *Lactobacillus* spp. (%88.6), *Peptoniphilus* spp. (%53.5), *L. iners* (%51.8), *G.vaginalis* (%50.8), *A. vaginae* (%20.2), *Corynebacterium* spp. (%17.5), *L. jensenii*, *Prevotella* (%6.1), BVAB2 (%3.5), *L. crispatus*, *L. gasseri*, *Megasphaera* tip1 (%1.8), BVAB3, *Leptotrichia/Sneathia*, *M. mulieris* (%0.9) şeklinde belirlendi **(Çizelge 3.2)**. BVAB1 ve *P. lacrimalis* ise hiç saptanmadı.

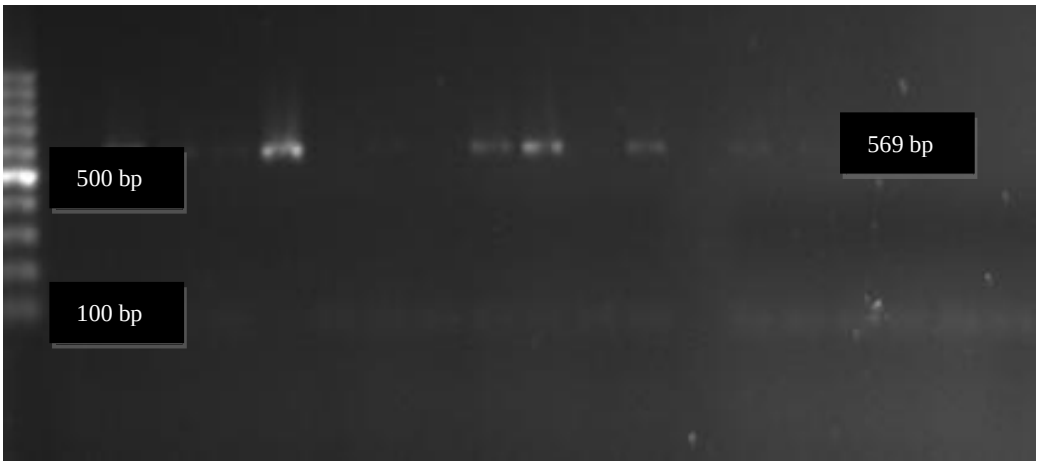


Şekil 3.1. *Lactobacillus* spp.'ye ait PCR sonuçlarının Gel Logic 200 Imaging System görüntüsü (çalışmamızdan)

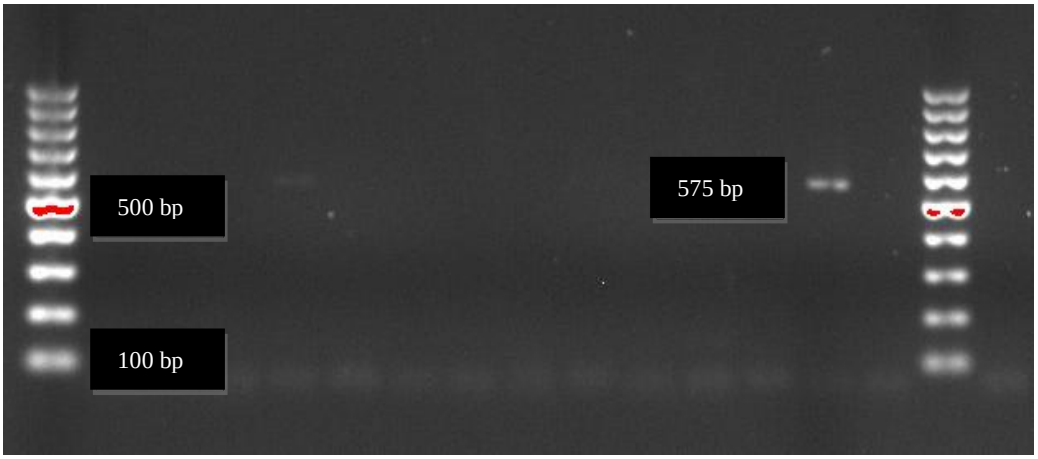
Örneklerin 101'inde *Latobacillus* spp. belirlendi (**Çizelge 3.3**.). *Lactobacillus* spp. belirlenen 101 gönüllüden 59'unda (%58.4) *L. iners* saptanırken 42'sinde (%41.6) tespit edilmedi. Bu gönüllülerde diğer bakterilerin prevalansı *G. vaginalis* 24/42 (%57), *Peptoniphilus* spp. 22/42 (%52), *Corynebacterium* spp. 11/42 (%26), *A. vaginae* 7/42 (%17), BVAB2 2/42 (%5), *L. jensenii*, *L. crispatus*, BVAB3, *Prevotella*, *M. mulieris* 1/42 (%2) olarak belirlendi.

Çizelge 3.2. İdrar örneklerinde belirlenen bakterilerin sıklığı.

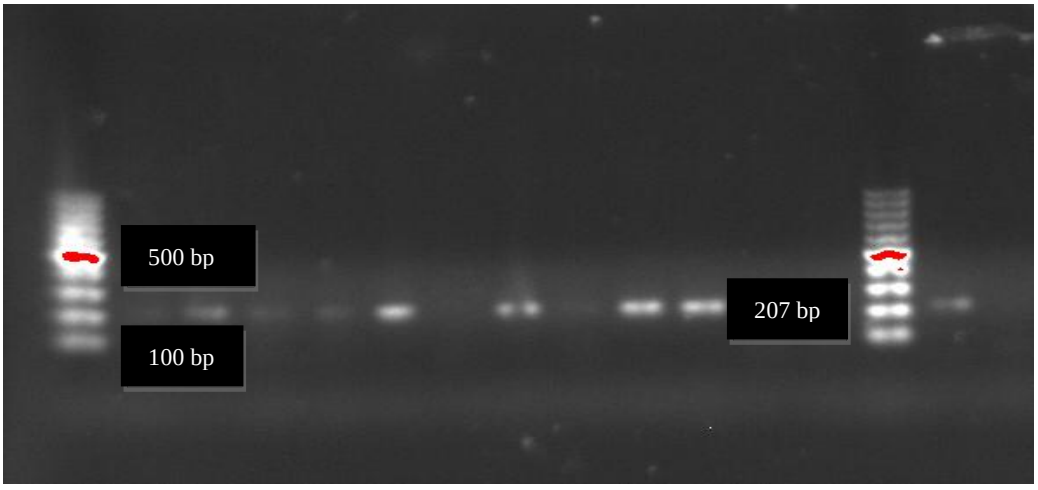
Tespit edilen bakteri	**n (%)**
Lactobacillus spp.	101 (88.6)
Peptoniphilus spp.	61 (53.5)
L. iners	59 (51.8)
G. vaginalis	58 (50.9)
A.vaginae	23 (20.2)
Corynebacterium spp.	20 (17.5)
L. jensenii	7 (6.1)
Prevotella	7 (6.1)
BVAB2	4 (3.5)
L. crispatus	2 (1.8)
L. gasseri	2 (1.8)
Megasphaera tip1	2 (1.8)
BVAB3	1 (0.9)
Leptotrichia/*Sneathia*	1 (%0.9)
M. mulieris	1 (%0.9)



Şekil 3.2. *Lactobacillus iners'*e ait PCR sonuçlarının Gel Logic 200 Imaging System görüntüsü (çalışmamızdan).



Şekil 3.3. *Atopobium vaginae*'ye ait PCR sonuçlarının Gel Logic 200 Imaging System görüntüsü (çalışmamızdan).



Şekil 3.4. Şekil 3.2. *Gardnerella vaginalis'*e ait PCR sonuçlarının Gel Logic 200 Imaging System görüntüsü (çalışmamızdan).

Çizelge 3.3. Toplam 101 *Lactobacillus* spp.'nin diğer bakterilerle birliktelikleri.

***Lactobacillus* spp. ve diğer bakteriler**	**n (%)**
Lactobacillus spp. (tek başına)	4 (4.0)
*Lac.*spp, *L. iners*	6 (5.9)
*Lac.*spp, *L. iners, A. vaginae*	2 (2.0)
*Lac.*spp, *L. iners, A. vaginae, G. vaginalis*	5 (5.0)
*Lac.*spp, *L. iners, A. vaginae, G. vaginalis, Peptoniphilus* spp.	2 (2.0)
*Lac.*spp, *L. iners, A. vaginae, G. vaginalis, Peptoniphilus* spp., BVAB2, *Prevotella*	1 (1.0)
*Lac.*spp, *L. iners, A. vaginae, G. vaginalis, Prevotella, Megasphaera*1, *Corynebacterium* spp.	1 (1.0)
*Lac.*spp, *L. iners, Corynebacterium* spp.	2 (2.0)
*Lac.*spp, *L. iners, G. vaginalis*	6 (5.9)
*Lac.*spp, *L. iners, G. vaginalis, Peptoniphilus* spp.	7 (6.9)
*Lac.*spp, *L. iners, G. vaginalis, Peptoniphilus* spp., *Corynebacterium* spp.	1 (1.0)
*Lac.*spp, *L. iners, G. vaginalis, Peptoniphilus* spp., *Prevotella*	1 (1.0)
*Lac.*spp, *L. iners, G. vaginalis, Prevotella, Megasphaera*1	1 (1.0)
*Lac.*spp, *L. iners, L. crispatus, G. vaginalis*	1 (1.0)
*Lac.*spp, *L. iners, L. gasseri*	1 (1.0)
*Lac.*spp, *L. iners, L. jensenii, A. vaginae, G. vaginalis, Peptoniphilus* spp.	2 (2.0)
*Lac.*spp, *L. iners, L. jensenii, G. vaginalis*	1 (1.0)
*Lac.*spp, *L. iners, L. jensenii, L. gasseri*	1 (1.0)
*Lac.*spp, *L. iners, L. jensenii, Peptoniphilus* spp.	2 (2.0)
*Lac.*spp, *L. iners, Peptoniphilus* spp.	12 (11.9)
*Lac.*spp, *L. iners, Peptoniphilus* spp., *Corynebacterium* spp.	2 (2.0)
*Lac.*spp, *L. jensenii, Peptoniphilus* spp.	1 (1.0)
*Lac.*spp, *L. crispatus, A. vaginae, Peptoniphilus* spp.	1 (1.0)
*Lac.*spp, *Peptoniphilus* spp.	5 (5.0)
*Lac.*spp, *Peptoniphilus* spp., BVAB2, *Corynebacterium* spp.	1 (1.0)
*Lac.*spp, *Peptoniphilus* spp., *Corynebacterium* spp.	5 (5.0)
*Lac.*spp., *G. vaginalis*	1 (1.0)
*Lac.*spp, *A. vaginae*	1 (1.0)
*Lac.*spp, *A. vaginae, G. vaginalis,*	2 (2.0)
*Lac.*spp, *A. vaginae, G. vaginalis,* BVAB2	1 (1.0)
*Lac.*spp, *A. vaginae, G. vaginalis, Peptoniphilus* spp.	2 (2.0)
*Lac.*spp, *A. vaginae, G. vaginalis, Peptoniphilus* spp., *Prevotella, Corynebacterium* spp.	1 (1.0)
*Lac.*spp, BVAB2	1 (1.0)
*Lac.*spp, *Corynebacterium* spp.	1 (1.0)
*Lac.*spp, *G. vaginalis*	7 (6.9)
*Lac.*spp, *G. vaginalis, Corynebacterium* spp.	2 (2.0)
*Lac.*spp, *G. vaginalis, Peptoniphilus* spp.	6 (5.9)

*Lac.*spp, *G. vaginalis, Peptoniphilus* spp., BVAB3	1 (1.0)
*Lac.*spp, *G. vaginalis, Peptoniphilus* spp., *Corynebacterium* spp., *M. mulieris*	1 (1.0)

Yüz on dört gönüllüden 13'ünde ise *Lactobacillus* spp. saptanmadı (%11.4). *Lactobacillus* spp. saptanan gönüllülerde toplam bakteri sayısı, Lactobacillus spp. saptanmayanlara göre çok daha fazlaydı (p=0.001). *Lactobacillus* spp. saptanmayan gönüllülerde diğer bakterilerin yüzdeleri **Çizelge 3.4**'te verilmiştir.

Çizelge 3.4. *Lactobacillus* spp. saptanmayan örneklerde belirlenen diğer bakteriler.

Bakteriler	**n (%)**
G. vaginalis, Peptoniphilus	3 (23.1)
Peptoniphilus spp.	3 (23.1)
Prevotella, Corynebacterium spp.	1 (7.7)
A.vaginae, Corynebacterium spp.	1 (7.7)
Peptoniphilus spp., *Corynebacterium* spp.	1 (7.7)
Leptotrichia/Sneathia	1 (7.7)
A.vaginae, G. vaginalis	1 (7.7)
G. vaginalis	1 (7.7)
A. vaginae, Peptoniphilus spp.	1 (7.7)
TOPLAM	**13 (100)**

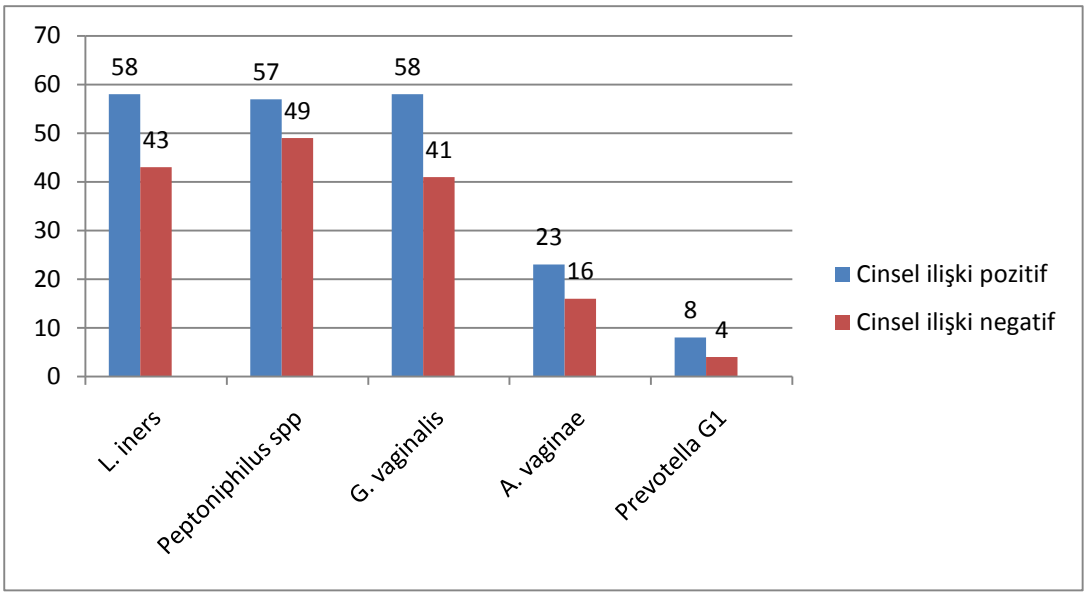
En sık saptanan *L. iners, Peptoniphilus* spp., *G. vaginalis* ve *A. vaginae* ile cinsel ilişki arasında anlamlı ilişki saptanmadı (p>0.5) (**Çizelge 3.5).**

Çizelge 3.5. Cinsel ilişki durumuna göre *L. iners, Peptoniphilus* spp., *G. vaginalis, A. vaginae* ve *Prevotella*'in görülme sıklıkları.

BV ile ilişkili bakteri	**Cinsel ilişki deneyimli (n=65) (%)**	**Cinsel ilişki deneyimsiz (n=49) (%)**
L. iners	38 (58.5)	21 (42.9)
G. vaginalis	38 (58.5)	20 (40.8)
Peptoniphilus spp.	37 (56.9)	24 (49.0)
A.vaginae	15 (23.1)	8 (16.3)

Cinsel ilişki durumu ile *L. iners, G. vaginalis, A.vaginae* ve *Peptoniphilus* spp. arasında ve *L. iners, G. vaginalis, A.vaginae* ve *Peptoniphilus* spp.'nin kendi aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olup olmadığı ki-kare bağımsızlık

testi ile analiz edildi. Cinsel ilişki ile *L. iners* (p=0.194), *A. vaginae* (p=0.514), *G. vaginalis* (p=0.094) ve *Peptoniphilus* spp. (p=0.514) arrasında anlamlı bir ilişki saptanmadı. Ayıca *A. vaginae* ve *G. vaginalis* dışında, bu bakterilerin birliktelikleri arasında da herhangi bir anlamlı ilişki görülmedi (*L. iners* ve *A. vaginae* için p=0.709, *L. iners* ve *G. vaginalis* için p=0.997, *L. iners* ve *Peptoniphilus* spp. için p=0.841, *A.vaginae* ve *Peptoniphilus* spp için p=0.189, *G. vaginalis* ve *Peptoniphilus* için p=341). *A. vaginae* ve *G. vaginalis*'in birlikte bulunmaları ise ki-kare testi sonucu istatistiksel olarak anlamlıydı (p=0.024). Bu sonuca göre *A. vaginae* saptanan bireylerin saptanmayan bireylere göre *G. vaginalis* belirlenme olasılığı 3.45 kat daha fazla bulundu.



Grafik 3.1. Cinsel ilişki durumuna göre *L. iners, Peptoniphilus* spp., *G. vaginalis, A. vaginae* ve *Prevotella*'nın görülme yüzdeleri.

Mann-Withney U testine göre istatistiksel olarak anlamlı bir değere ulaşmasa da *G. vaginalis* (p=0.068) ve *A. vaginae*'nın (p=0.06) artan yaşla beraber görülme sıklıklarının arttığı tespit edildi. *L. iners* ve *Peptoniphilus* spp. ile yaş arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı (p=346, p=356).

Ayrıca anlamlı bir değere ulaşmamasına rağmen sigara içenlerde *G. vaginalis* (p=0.067) ve *A. vaginae* (p=0.077) bulunma sıklığının daha fazla olduğu görüldü.

4. TARTIŞMA

İnsan vücuduna ait mikrobiyota ile konak ekosistemi sıkı sıkıya ilişkilidir ve karşılıklı bir etkileşim söz konusudur (Van Tyne ve Gilmore 2014). Mikrobiyota, kolonizasyon direncinin yanı sıra metabolizma, bağışıklık sisteminin uyarılması ve epitel hücrelerinin büyüme ve gelişme işlevlerinde rol oynar (Van Tyne ve Gilmore 2014). Erkek genital kanal mikrobiyotası, her ne kadar barsaklarda olduğu kadar yüksek bir bakteri kitlesine sahip olmasa bile aynı görevleri üstlenir. Mikroorganizmalar, bağışıklık yetmezliği, altta yatan hastalık durumları ve disbiyozis gibi durumlarda kendi mukozal alanlarından diğer alanlara yer değiştirebilir. Bunun sonucunda ise fırsatçı infeksiyonlara yol açabilirler (Quigley 2013, Brussow 2014, Bustos Fernandez ve ark 2014, Nibali ve ark 2014).

Üretra hem idrarın hem de semenin geçişini sağlayan bir kanaldır. Bu nedenle erkeklerde üriner sistem ve genital sistemi birbirinden ayrı düşünmek olanaksızdır. Cinsel aktivite sırasında semen başta olmak üzere diğer vücut sıvıları ile kommensal ve patojen mikroorganizmaların asendan ve desendan olarak kadın ile erkek ürogenital kanalları arasında taşınması mümkündür (Kendall ve Karafin 1969).

Erkek ürogenital kanalının mikroflorası ile ilgili az sayıda araştırma bulunmaktadır. Bu araştırmalar 2000 yılından önce yapılmış kültüre dayalı çalışmalardır ve daha çok üretritli hastalarla kontrol gruplarını içine almaktadır. Bu nedenle erkek ürogenital kanalında yer alan kommensal bakteriler hakkındaki bilgiler son yıllara kadar kültürlerde üreyenlerle sınırlı kalmıştır (Bowie ve ark 1977, Bowie ve ark 1977, Willen ve ark 1996, Mazuecos ve ark 1998, Bradshaw ve ark 2006).

Koronal sulkus bölgesinin mikroflorası ile ilgili çalışmalar daha çok balanopostit etiyolojisini araştırmaya yönelik kültür yöntemine dayalı araştırmalardır veya sünnetin HIV, HSV ve HPV gibi patojenlerin bulaşını nasıl etkilediğine yöneliktir (Kinghorn ve ark 1982, Masfari ve ark 1983, Moss 1983, Burdge ve ark 1986, Tobian ve ark 2009, Giuliano ve ark 2011, Larke ve ark 2011, Rositch

ve ark 2014, Tobian ve ark 2014). Üretra ile ilgili çalışmaların ise, daha çok cinsel yolla bulaşan bakteriler ile ilgili yine kültüre dayalı çalışmalar olduğu görülmektedir (Geizer 1970, Dunlop ve ark 1972, Bollgren ve Winberg 1976, Alani ve ark 1977, Iatsukha ve ark 1978, Holst ve ark 1984, Soffer ve ark 1990, Jensen ve ark 1996). Hem üretra hem de KS, cinsel ilişki sırasında yabancı mikroorganizmaların girişine açık bölgelerdir. Aynı zamanda bu iki bölge aerob, anaerob ve mikroaerofil bakterilerin yaşamasına uygun bir ortam da sağlamaktadır (Bollgren ve Winberg 1976, Bowie ve ark 1977, Nelson ve ark 2012).

Yenidoğan idrarlarında *Lactobacillus*'un sıklıkla belirlenmesi, *Lactobacillus* kolonizasyonunun vertikal olabileceğini düşündürmektedir (Lee ve ark 2009). Bakteriyel vaginozis ile ilişkili olduğu bilinen ve normal vajen mikroflorasında yer alan *Atopobium, Megasphaera, Mobiluncus, Prevotella, Gardnerella* ve *Clostridium* gibi çoğunluğu anaerop bakteri cinslerinin (Fredricks ve ark 2005), cinsel deneyimi olmayan katılımcıların ürogenital bölgelerinde saptanması, vajende yer alan birçok bakteri cinsinin erkek üretrasında da kolonize olduğunu göstermektedir (Price ve ark 2010, Dong ve ark 2011, Nelson ve ark 2012). Diğer taraftan *Leptotrichia*/*Sneathia*, *Mycoplasma* ve *Ureaplasma* gibi BV ile ilişkili bazı bakterilerin sadece cinsel aktif katılımcılarda belirlenmesi nedeniyle, cinsel ilişkinin ürogenital mikrobiyota yapısını değiştirebileceği iddia edilmiştir (Nelson ve ark 2010, Nelson ve ark 2012, Manhart ve ark 2013).

Üreme çağındaki kadınlarda BV en sık görülen genital infeksiyondur. Bakteri hedefli PCR yöntemi kullanarak sağlıklı erkek üretrasında BV ile ilişkili bakterilerin varlığının tür düzeyinde saptanması sonucu BV etiyopatogenezi ve erkek üretra mikroflorasının aydınlatılmasına katkı sağlanması amaçlanan çalışmamızda *Lactobacillus* spp. en sık belirlenen bakteri olmuştur (%88.6). Bowie ve ark.(1977) kültür yöntemini kullandıkları çalışmalarında sağlıklı kontrollerin üretralarından *Lactobacillus* spp.'yi %82 oranında izole etmişlerdir. Bizim çalışmamızda *Lactobacillus* spp. pozitif örneklerin %58.4'ünde *L. iners* saptanmıştır (bütün örneklerin %51.8'i). *L. crispatus, L. jensenii* ve *L. gasseri, Lactobacillus* spp. pozitif örneklerde daha az sıklıkla (%2, %7 ve %2) karşımıza çıkmıştır. Çalışmamızdaki bu oranlar Nelson ve ark.(2012)'nın pirosekanslama

yöntemini kullandıkları moleküler temelli çalışma ile de uyumludur. Araştırıcılar erkek üretrasında saptadıkları *Lactobacillus* spp.'nin neredeyse tamamının *L. iners* olduğunu belirlemişlerdir (Nelson ve ark 2012). Pek çok mikrobiyolojik tanıda altın standard olan kültür yöntemi son derece kıymetli olmasına rağmen nükleik asit tespit yöntemleri daha duyarlıdır. Her ne kadar farklı yöntemlerle yapılan çalışmaların sonuçlarını karşılaştırmak doğru olmasa da, literatürde kullandığımız yöntemle yapılan çalışmalar bildiğimiz kadarıyla çok nadir olduğu için bu türden kıyaslama kaçınılmaz olmuştur.

Üretranın *Lactobacillus* türlerince kolonizasyonu uzun zamandır bilinmektedir. Erkek ürogenital kanalında yer alan laktobasillerin kadındakine benzer şekilde yabancı mikroorganizmalara karşı koruyucu olabileceği düşünülmektedir (Spurbeck ve Arvidson 2008, 2010, Dong ve ark 2011). Gonokokal ve nongonokokal üretritli hastaların üretralarında *Lactobacillus* spp.'nin, sağlıklı kontrollere göre oldukça düşük soyutlanması ($p<0.0001$) bu düşünceyi desteklemektedir (Bowie ve ark 1977). Benzer şekilde Dong ve ark.(2011), 16S rRNA sekanslama yöntemi ile sağlıklı katılımcıların idrar ve üretral sürüntü örneklerinde *Lactobacillus*'un en sık görülen bakteri cinsi olduğunu, cinsel yolla bulaşan hastalıklardan birine sahip katılımcıların örneklerinde ise *Lactobacillus* sıklığının oldukça azaldığını saptamışlardır. Araştırıcılar, kadınlarda *Lactobacillus*'un CYBH'ya karşı koruyucu olmasından (Spurbeck ve Arvidson 2008) ve BV'nin CYBH'ya yatkınlık oluşturmasından (Schwebke ve Desmond 2005) yola çıkarak, *Lactobacillus* ve *Leptotrichia/Sneathia* gibi BV ile ilişkili bakterilerin erkeklerde de CYBH edinme riskinde etkili olabileceğini öne sürmüşlerdir (Dong ve ark 2010, Manhart ve ark 2013).

Çalışmamızda sağlıklı katılımcıların %11.4'ünde *Lactobacillus* spp. tespit edilmemiştir. Bu idrar örneklerinden birinde BV tanısında yüksek özgüllük ve duyarlılığa sahip *Leptotrichia/Sneathia* (Fredricks ve ark 2007) tek başına saptanmıştır. *Lactobacillus* spp. saptanmayan örneklerde en sık belirlenen bakteriler *Peptoniphilus* spp., *G. vaginalis* ve *A. vaginae* olmuştur. Genel olarak *Lactobacillus* spp. negatif örneklerde saptanan toplam bakteri türü de düşük saptanmıştır. *Lactobacillus* spp. tespit edilmeyen örneklerde 1-3 bakteri türü

(ortalama 1.7); *Lactobacillus* spp. saptananlarda ise 1-6 bakteri türü (ortalama 2.6) belirlenmiştir (p=0.001).

Çalışmamızda *Peptoniphilus* spp., *Lactobacillus* spp.'den sonra ikinci en sık belirlenen bakteri olmuştur (%53.5). Anaerop bir bakteri olan *Peptoniphilus* spp., KS örneklerinde yüksek oranda (13/17) belirlenen bakterilerdendir (Nelson ve ark 2012). Ancak idrarda pirosekanslama yöntemi ile saptanan majör bakteri cinsleri arasında yer almamaktadır (Nelson ve ark 2012). Çalışmamıza katılan gönüllülerin tamamı sünnetlidir. Bu nedenle cilt kontaminasyonu olma ihtimali düşüktür. Ayrıca *Peptoniphilus* spp., vajen örneklerinde en sık belirlenen bakterilerden biridir (Fredricks ve ark 2007).

Çalışmamızda *G. vaginalis* %50.8 oranında saptanmıştır. Bowie ve ark. (1977) çalışmalarında, kontrol grubunda *G. vaginalis*'i kültür yöntemi ile %58 oranında izole etmiştir. Diğer taraftan Nelson ve ark.(2012) pirosekanslama yöntemi ile daha az oranda *G. vaginalis* tespit etmişlerdir (%27.7, 5/18). Ancak Nelson ve ark.(2012)'nın çalışma popülasyonun oldukça küçük olduğu göz önünde tutulmalıdır.

Bakteriyel vaginozis patogenezinden tek başına sorumlu tutulan bir bakteri henüz belirlenememiştir. Bu alanda yapılan çalışmalar BV'nin polimikrobiyal ve kompleks yapısına işaret etmektedir. Bununla beraber, tarihsel süreci boyunca BV etiyolojisinden en sık sorumlu tutulan bakteri *G. vaginalis* olmuştur (Turovskiy ve ark 2011). Bakteriyel vaginozisteki ipucu hücrelerini oluşturan biyofilm yapısının majör bileşeni *G. vaginalis*'tir (Harwich ve ark 2010). Sağlıklı kadınların vajen mikroflorasında da kolonize olduğu için *G. vaginalis*'in, BV tanısındaki özgüllüğü düşüktür (Fredricks ve ark 2007). Buna karşın, BV tanısı alan hemen her kadında belirlenmesi nedeniyle *G. vaginalis*'in BV tanısındaki duyarlılığı oldukça yüksektir (Mikamo ve ark 2000).

Son yıllardaki PCR temelli yöntemler, BV ile ilişkili vajen mikroflorasının daha iyi tanımlanmasını sağlamıştır. Bu sayede daha önce geleneksel kültür yöntemleri ile belirlenemeyen yeni bakteri türleri tanımlanmıştır. Bu bakteriler arasından en dikkat çekeni, BV ile ilişkili olduğu farklı çalışma grupları tarafından bildirilen

A. vaginae'dır (Verhelst ve ark 2004, Menard ve ark 2008, Haggerty ve ark 2009). Çalışmamızda *A. vaginae* %20.8 oranında saptanmıştır. Kantitatif PCR yöntemiyle yapılan bir çalışmada erkek üretrasında *Atopobium* spp. %8.1 oranında bildirilmiştir (Manhart ve ark 2013). *A. vaginae*, Nelson ve ark.(2010) tarafından CYBH pozitif hastaların idrarında pirosekanslama yöntemi ile 5/8 (%62.5) oranında belirlenmiş, 11 kişilik sağlıklı grupta ise tespit edilmemiştir. Prevalans belirtmemekle birlikte, sağlıklı kontrollerin idrar ve üretral sürüntü örneklerinde *Atopobium* varlığı başka çalışmalarda da bildirilmiştir (Dong ve ark 2011). Sağlıklı kadınlarda *G. vaginalis* ve *A. vaginae*'nın belirlenmesi, bu iki bakterinin sağlıklı vajenin asidik pH'sına dayanıklı olduklarının kanıtıdır. Sağlıklı ve BV'li kadınların vajinal örneklerini araştıran farklı çalışma grupları *G. vaginalis* ve *A. vaginae*'nın genellikle birlikte bulunduklarını belirlemişler ve bu birlikteliğin istatistiksel olarak anlamlı olduğunu saptamışlardır (Trama ve ark 2008, Silva ve ark 2014). Ayrıca *A. vaginae, G. vaginalis*'e göre sağlıklı kadınlarda daha düşük sıklıkta belirlenmesi nedeniyle BV tanısında *G. vaginalis*'ten daha özgüldür (Menard ve ark 2008).

A. vaginae ve *G. vaginalis* birlikteliğinin reküren BV ve anormal vajen florası ile; yüksek bakteri yüklerinin de preterm eylemle ilişkili olduğu bildirilmiştir (Bradshaw ve ark 2006, Bretelle ve ark 2014). BV patogenezinde önemli yeri olan biyofilm yapısını çoğunlukla *G. vaginalis* ve *A. vaginae* oluşturmaktadır (Swidsinski ve ark 2008, McMillan ve ark 2011, Marconi ve ark 2013). *A. vaginae*, *G. vaginalis* olmadan nadiren belirlenmektedir. Bu da bu iki mikroorganizma arasında sinerji olabileceğini göstermektedir (Bradshaw ve ark 2006).

Bu bilgiler göz önünde tutulduğunda, uygun şartlar oluştuğu zaman, *G. vaginalis* ve *A. vaginae*'nın birlikte, diğer anaerob bakterilerin BV'ye zemin hazırlayacak şekilde çoğalmalarını sağladığı düşünülebilir. Çalışmamızda 114 idrar örneğinden 58'inde *G. vaginalis*, 23'ünde *A. vaginae* saptanmıştır. On yedi örnekte *G. vaginalis* ve *A. vaginae* birlikte belirlenmiştir (%73.9). *G. vaginalis* ve *A. vaginae*'nın birlikte bulunması istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur

(p=0.024). Çalışmamız, erkek üretrasında bu birlikteliğin bildiğimiz kadarıyla ilk kez gösterilmesi bakımından önem taşımaktadır.

Son yıllarda rRNA sekanslamaya dayanan yöntemlerin gelişmesiyle kadın ve erkek ürogenital kanalında yer alan mikroorganizmaların sağlıklı ve patolojik koşullardaki filogenetik çeşitliliği ortaya konmuştur. Mikrobiyota yapısı bireyler arasında cins ve tür düzeyinde büyük farklılıklar göstermesine rağmen, kadın ve erkek ürogenital kanalında sıklıkla tespit edilen *Actinobacteria* ve *Bacteroidetes* şubelerinin BV ile çok sıkı bir ilişkisi olduğu artık bilinmektedir (Ling ve ark 2010). Bazı bakterilerin tek başına veya başka bakterilerle birlikte BV'nin mükemmel belirteçleri olduğu gösterilmiştir. Bu bakteriler arasında *Megasphaera*, *Leptotrichia*/*Sneathia*, *Eggerthella*-benzeri bakteri, BVAB2 ve BVAB3 sayılabilir (Fredricks ve ark 2005, Lamont ve ark 2011, Fethers ve ark 2012).

Çalışmamızda sağlıklı erkeklerin üretralarında BV'ye özgüllüğü çok yüksek olan BVAB2 %3.5, *Megasphaera* tip1 %1.7, BVAB3 ve *Leptotrichia*/*Sneathia* %0.9 oranlarında belirlenmiştir. BVAB1 ve *P. lacrimalis* ise hiç saptanmamıştır. Bakteriyel vaginozis olgularında sıklıkla karşımıza çıkan fakat BV'ye özgüllüğü daha düşük olan *M. mulieris* %0.9 olarak tespit edilmiştir.

Manhart ve ark. (2013) bakteri hedefli kantitatif PCR yöntemini kullandıkları çalışmalarında sağlıklı kontrollerde *Leptotrichia/Sneathia* spp. sıklığını %5.9, üretritli hastalarda %15.6 (p=0.03); BVAB2 sıklığını %1 ve %4.5 (p=0.15) oranlarında belirlemişlerdir. BVAB3 ve *Megasphaera*'yı yalnızca üretritli hastalarda ve nadiren (%0.8 ve %0.4) saptamışlardır. Bazı örneklerde *Leptotrichia/Sneathia* ve *Atopobium* spp.'yi diğer bakteriler olmaksızın belirlemişlerdir (16/30 ve 7/30). BVAB2, BVAB3 ve *Megasphaera* spp., hiçbir örnekte tek başına saptanmamış; bu üç BV ile ilişkili bakteri *Leptotrichia/Sneathia* ile beraber saptanmıştır. Ayrıca *Leptotrichia/Sneathia* pozitif örneklerin %77'sinde *Atopobium* spp. pozitif bulunmuştur (Manhart ve ark 2013). Nelson ve ark.(2010) CYBH pozitif sekiz hastanın tamamında pirosekanslama yöntemiyle *Sneathia* tespit etmişler, sağlıklı kontrollerde

Sneathia'ya rastlamamışlardır. Bu nedenle *Sneathia*'nın CYBH ile ilişki olduğunu öne sürmüşlerdir (Nelson ve ark 2010).

Bizim çalışmamızda *Leptotrichia*/*Sneathia* tek bir idrar örneğinde tek başına pozitif olarak saptanmıştır. BVAB2 dört idrar örneğinde saptanmıştır. Bu dört örneğin birinde BV'ye yüksek özgüllükte olduğu bildirilen bakteri saptanmamıştır. İki BVAB2 pozitif örnekte *G. vaginalis* ve *A. vaginae* birlikte saptanmıştır. BVAB2 pozitif son örnekte ise *A. vaginae* olmadan, *G. vaginalis* pozitif bulunmuştur.

Çalışmamızda *Megasphaera* saptanan iki idrar örneğinde *G. vaginalis* ve *A. vaginae* pozitif olarak saptanmıştır. BVAB3, *G. vaginalis* ile birlikte belirlenmiştir. Ancak saptanan bakterilerin çok nadir olmasından dolayı istatistiksel analiz yapılamamıştır.

Manhart ve ark.(2013), *Leptotrichia/Sneathia* spp., BVAB2, BVAB3, ve *Megasphaera* spp. pozitif kişilerin NGÜ, klamidyal üretrit veya gonokokal üretrit hikayelerinin olması nedeniyle bu bakterilerin cinsel yolla bulaşabileceği öne sürmüştür. Bizim çalışmamızda BVAB2, BVAB3, *Megasphaera* tip1, *Leptotrichia*/*Sneathia* ve *M. mulieris* tespit edilen katılımcıların tamamının cinsel aktif kişiler olduğu belirlenmiştir. Bakteriyel vaginozis için oldukça özgül belirteçlerden (Fredricks ve ark 2007) biri olan BVAB2 pozitif dört katılımcıdan üçünün, cinsel aktif olmalarına rağmen evli olmamaları, bu bakterinin çok eşli cinsel ilişki sonucu edinilebileceği, dolayısıyla CYBH ile ilişkili olabileceği ihtimalini akla getirmektedir.

Prevotella, Bowie ve ark. (1977)'nın kültür temelli çalışmalarında %58 oranında saptanmıştır. Pirosekanslama temelli başka bir çalışmada sağlıklı bireylerin üretralarında en sık belirlenen bakteriler arasında *Prevotella* (sıklık gösterilmemiştir) yer almasına (Dong ve ark 2011) rağmen bizim çalışmamızda %6.1 oranında saptanmıştır. Ancak çalışmamızdaki *Prevotella* oranı, Mazuecos ve ark.(1998)'nın sağlıklı kontrollerdeki kültürde izolasyon oranı ile benzerdir (sağlıklı kontrollerde %8.5, üretritli hastalarda %20). *Prevotella,* Nelson ve ark. (2010)'nın pirosekanslama temelli çalışmalarında CYBH pozitif sekiz hastanın

tamamında, 11 sağlıklı kontrolün ise sadece ikisinde (%18.2) saptamışlar ve *Sneathia* ile *Prevotella* arasında güçlü bir pozitif ilişki olduğunu savunmuşlardır.

Çalışmamızda cilt mikroflorasında yer alan *Corynebacterium* spp.'nin sıklığı %17.5 olarak belirlenmiştir. Mazuecos ve ark. (1998) kültür yöntemiyle kontrol grubunun üretra örneklerinden %3; üretritli hastaların üretra örneklerinden %6 oranında *Corynebacterium* spp. soyutlamışlardır. Dong ve ark.(2011) ise idrarın üretral sürüntü örnekleri yerine kullanılıp kullanılamayacağını araştırmak amacıyla pirosekanslama yöntemi ile bir çalışma gerçekleştirmişlerdir. Bu çalışmada, tespit edilen bakteriler arasından yalnızca *Corynebacterium* spp.'yi üretral sürüntü örneklerine göre idrarda daha sık saptamışlardır ($p<0.001$). Araştırıcılar bunun nedenini cilt mikroflorası ile kontaminasyon olasılığına bağlamışlardır (Dong ve ark 2011).

Cinsel ilişkinin üretranın mikroflora yapısını nasıl etkilediği merak edilen ve hala tartışılan bir konudur. Erkek ürogenital mikroflorasının anlaşılmasını sınırlayan konulardan biri, cinsel ilişkinin erkek ve kadın ürogenital kanal mikroflorasına etkisi ile ilgili verilerin yetersiz olmasıdır. Üretra örneklerinden soyutlanan anaerobik mikroflora yapısının cinsel ilişki durumuna göre değiştiği gösterilmiştir (Chambers ve ark 1987, Mazuecos ve ark 1998). Aerobik bakteri profili ile cinsel ilişki arasında bir bağlantı saptanmamakla beraber *Mycoplasma* ve *Ureaplasma* urealyticum'un, yalnızca cinsel aktif kişilerde pozitif olduğu belirlenmiştir (Chambers ve ark 1987). Üretrada cinsel ilişki sonrasında vajen mikroflorasında yer alan bakterilerin belirlenmesi, vajen mikroflorasının üretrayı kolonize etmesine, cinsel ilişkinin aracı olduğunu düşündürmektedir (Mazuecos ve ark 1998).

Çalışmamızda gönüllülerin %43'ü cinsel deneyimi olmadığını belirtmiştir. Cinsel aktif kişilerin %84.6'sı evli ve tek eşli olduklarını beyan etmiştir. Çalışmamızda yer alan hiçbir bakteri ile cinsel ilişki arasında ilişki saptanmamıştır ($p>0.05$). Ancak anlamlı olmasa da, cinsel aktif kişilerde bu bakterilerin sıklığının arttığı belirlenmiştir.

Çalışmamızda 114 gönüllünün idrarlarında en az bir ve en fazla altı bakteri türü saptanmıştır. Cinsel ilişkide hiç bulunmamış katılımcılarda ortalama bakteri tür sayısı 2.2, cinsel ilişkide bulunmuş katılımcılarda ortalama bakteri tür sayısı ise 2.7 olarak tespit edilmiştir. Cinsel aktif kişilerin üretralarında belirlenen toplam bakteri tür sayısı, cinsel aktif olmayanlar ile karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuştur (p=0.008).

Ayrıca idrar örneklerinde beş ve altı bakteri türü saptanan gönüllülerin tamamının cinsel ilişkide bulunmuş otuzlu yaşlardaki kişiler olması, yaşla beraber idrarda tespit edilen bakteri sayısında artış olduğunu göstermektedir. Bunun sebebi muhtemelen ömür boyu cinsel ilişkide bulunma sıklığındaki kümülatif artıştır. Benzer şekilde, *G. vaginalis* ve *A. vaginae* pozitifliğinin yaş ile arttığı gözlemlense de, bu bakteriler ile artan yaş arasında ilişki saptanmamıştır (*G. vaginalis* için p=0.68, *A. vaginae* için p=0.60).

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda, yaşları 19-60 arasında değişen 114 sağlıklı erkek gönüllünün üretrasında *Lactobacillus* spp. %88.6, *Peptoniphilus* spp. %53.5, *L. iners* %51.8, *G.vaginalis* %50.8, *A. vaginae* %20.2, *Corynebacterium* spp. %17.5, *L. jensenii* %6.1, *Prevotella* G1 %6.1, BVAB2 %3.5, *L. crispatus* %1.8, *L. gasseri* %1.8, *Megasphaera* tip1 %1.8, BVAB3 %0.9, *Leptotrichia/Sneathia* %0.9, *M. mulieris* %0.9 olarak belirlenmiştir. BVAB1 ve *P. lacrimalis*'e ise hiç rastlanmamıştır.
Her idrar örneğinde en az bir en fazla bakteri saptanmıştır. Cinsel ilişkide hiç bulunmamış bireylerde tespit edilen ortalama bakteri sayısı 2.1; cinsel ilişkide bulunmuş kişilerde tespit edilen ortalama bakteri sayısı ise 2.7 olarak belirlenmiştir. Bu iki grup arasında istatistiksel olarak fark elde edilmiştir.($p=0.008$).

A. vaginae ve *G. vaginalis* dışındaki bakteriler arasında birlikte bulunma açısından herhangi bir anlamlı ilişki belirlenememiştir. *A. vaginae* ve *G. vaginalis*'in erkek üretrasında birlikte bulunmalarının anlamlı olduğu tespit edilmiştir ($p=0.024$). Bakteriyel vaginozisli kadınların vajinal örneklerinde *G. vaginalis* ve *A. vaginae*'nın birlikte bulunmaları da yapılan birçok araştırmada anlamlı bulunmuştur. Bu nedenle çalışmamız, her ne kadar bir genelleme yapılamayacak kadar küçük ölçekli olsa da, erkek üretrasındaki bu birlikteliği göstermesi bakımından BV patogenezini aydınlatma konusunda yapılanlara ve yapılacak olanlara küçük bir katkı sağlayacaktır.

Çalışmamızdaki katılımcılar arasında cinsel deneyimde bulunmuş ve bulunmamış kişiler neredeyse yarı yarıya belirlenmiştir. Cinsel aktif kişilerin neredeyse tamamı evli olup tek eşli kişiler olduğu saptanmıştır. Dolayısıyla çalışma popülasyonumuzda birden fazla cinsel eş, yeni cinsel eş gibi BV risk faktörlerinden birini taşıyan katılımcı sayısı çok düşüktür. Bu nedenle BV'nin cinsel yolla bulaşan bir hastalık olup olmadığını tespit edebilmek için BV risk faktörlerinden en az birine sahip kişilerin yeterli sayıda olduğu daha geniş kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKÇA

Africa CW, Nel J, Stemmet M, 2014. Anaerobes and bacterial vaginosis in pregnancy: virulence factors contributing to vaginal colonisation. International journal of environmental research and public health, 11, 7, 6979-7000.

Al-Mushrif S, Jones BM, 1998. A study of the prevalence of hydrogen peroxide generating Lactobacilli in bacterial vaginosis: the determination of H2O2 concentrations generated, in vitro , by isolated strains and the levels found in vaginal secretions of women with and without infection. Journal of obstetrics and gynaecology : the journal of the Institute of Obstetrics and Gynaecology, 18, 1, 63-7.

Alani MD, Darougar S, Burns DC, Thin RN, Dunn H, 1977. Isolation of Chlamydia trachomatis from the male urethra. The British journal of venereal diseases, 53, 2, 88-92.

Allsworth JE, Peipert JF, 2007. Prevalence of bacterial vaginosis: 2001-2004 National Health and Nutrition Examination Survey data. Obstetrics and gynecology, 109, 1, 114-20.

Amsel R, Totten PA, Spiegel CA, Chen KC, Eschenbach D, Holmes KK, 1983. Nonspecific vaginitis. Diagnostic criteria and microbial and epidemiologic associations. The American journal of medicine, 74, 1, 14-22.

Antonio MA, Hawes SE, Hillier SL, 1999. The identification of vaginal Lactobacillus species and the demographic and microbiologic characteristics of women colonized by these species. The Journal of infectious diseases, 180, 6, 1950-6.

Aroutcheva A, Ling Z, Faro S, 2008. Prevotella bivia as a source of lipopolysaccharide in the vagina. Anaerobe, 14, 5, 256-60.

Auvert B, Taljaard D, Lagarde E, Sobngwi-Tambekou J, Sitta R, Puren A, 2005. Randomized, controlled intervention trial of male circumcision for reduction of HIV infection risk: the ANRS 1265 Trial. PLoS medicine, 2, 11, e298.

Augustin G, Ramsak A, Peterka M, 2001. Systematics and evolution of ruminal species of the genus Prevotella. Folia microbiologica, 46, 1, 40-4.

Azcarate-Peril MA, Altermann E, Goh YJ, Tallon R, Sanozky-Dawes RB, Pfeiler EA, et al, 2008. Analysis of the genome sequence of Lactobacillus gasseri ATCC 33323 reveals the molecular basis of an autochthonous intestinal organism. Applied and environmental microbiology, 74, 15, 4610-25.

Bailey RC, Moses S, Parker CB, Agot K, Maclean I, Krieger JN, et al, 2007. Male circumcision for HIV prevention in young men in Kisumu, Kenya: a randomised controlled trial. Lancet, 369, 9562, 643-56.

Barrangou R, Lahtinen, S. J., Ibrahim, F., Ouwehand, A. C. , 2011. Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects, Boca Raton, CRS Press, p. 77-86.

Beigi RH, Austin MN, Meyn LA, Krohn MA, Hillier SL, 2004. Antimicrobial resistance associated with the treatment of bacterial vaginosis. American journal of obstetrics and gynecology, 191, 4, 1124-9.

Beigi RH, Wiesenfeld HC, Hillier SL, Straw T, Krohn MA, 2005. Factors associated with absence of H2O2-producing Lactobacillus among women with bacterial vaginosis. The Journal of infectious diseases, 191, 6, 924-9.

Bohbot JM, Lepargneur JP, 2012. [Bacterial vaginosis in 2011: a lot of questions remain]. Gynecologie, obstetrique & fertilite, 40, 1, 31-6.

Bollgren I, Winberg J, 1976. The periurethral aerobic bacterial flora in healthy boys and girls. Acta paediatrica Scandinavica, 65, 1, 74-80.

Boris S, Barbes C, 2000. Role played by lactobacilli in controlling the population of vaginal pathogens. Microbes and infection / Institut Pasteur, 2, 5, 543-6.

Boskey ER, Telsch KM, Whaley KJ, Moench TR, Cone RA, 1999. Acid production by vaginal flora in vitro is consistent with the rate and extent of vaginal acidification. Infection and immunity, 67, 10, 5170-5.

Bowie WR, Pollock HM, Forsyth PS, Floyd JF, Alexander ER, Wang SP, et al, 1977. Bacteriology of the urethra in normal men and men with nongonococcal urethritis. Journal of clinical microbiology, 6, 5, 482-8.

Bowie WR, Wang SP, Alexander ER, Floyd J, Forsyth PS, Pollock HM, et al, 1977. Etiology of nongonococcal urethritis. Evidence for Chlamydia trachomatis and Ureaplasma urealyticum. The Journal of clinical investigation, 59, 5, 735-42.

Bradshaw CS, Morton AN, Garland SM, Morris MB, Moss LM, Fairley CK, 2005. Higher-risk behavioral practices associated with bacterial vaginosis compared with vaginal candidiasis. Obstetrics and gynecology, 106, 1, 105-14.

Bradshaw CS, Morton AN, Hocking J, Garland SM, Morris MB, Moss LM, et al, 2006. High recurrence rates of bacterial vaginosis over the course of 12 months after oral metronidazole therapy and factors associated with recurrence. The Journal of infectious diseases, 193, 11, 1478-86.

Bradshaw CS, Tabrizi SN, Fairley CK, Morton AN, Rudland E, Garland SM, 2006. The association of Atopobium vaginae and Gardnerella vaginalis with bacterial vaginosis and recurrence after oral metronidazole therapy. The Journal of infectious diseases, 194, 6, 828-36.

Bradshaw CS, Tabrizi SN, Read TR, Garland SM, Hopkins CA, Moss LM, et al, 2006. Etiologies of nongonococcal urethritis: bacteria, viruses, and the association with orogenital exposure. The Journal of infectious diseases, 193, 3, 336-45.

Bretelle F, Rozenberg P, Pascal A, Favre R, Bohec C, Loundou A, et al, 2014. High Atopobium vaginae and Gardnerella vaginalis Vaginal Loads Are Associated With Preterm Birth. Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America.

Brotman RM, Ravel J, Bavoil PM, Gravitt PE, Ghanem KG, 2014. Microbiome, sex hormones, and immune responses in the reproductive tract: challenges for vaccine development against sexually transmitted infections. Vaccine, 32, 14, 1543-52.

Brussow H, 2014. Microbiota and the human nature: know thyself. Environmental microbiology.

Bukusi E, Thomas KK, Nguti R, Cohen CR, Weiss N, Coombs RW, et al, 2011. Topical penile microbicide use by men to prevent recurrent bacterial vaginosis in sex partners: a randomized clinical trial. Sexually transmitted diseases, 38, 6, 483-9.

Burdge DR, Bowie WR, Chow AW, 1986. Gardnerella vaginalis-associated balanoposthitis. Sexually transmitted diseases, 13, 3, 159-62.

Bustos Fernandez LM, Lasa JS, Man F, 2014. Intestinal microbiota: its role in digestive diseases. Journal of clinical gastroenterology, 48, 8, 657-66.

Byun R, Nadkarni MA, Chhour KL, Martin FE, Jacques NA, Hunter N, 2004. Quantitative analysis of diverse Lactobacillus species present in advanced dental caries. Journal of clinical microbiology, 42, 7, 3128-36.

Carlsson J, Gothefors L, 1975. Transmission of Lactobacillus jensenii and Lactobacillus acidophilus from mother to child at time of delivery. Journal of clinical microbiology, 1, 2, 124-8.

Carroll IM, Andrus JM, Bruno-Barcena JM, Klaenhammer TR, Hassan HM, Threadgill DS, 2007. Anti-inflammatory properties of Lactobacillus gasseri expressing manganese superoxide dismutase using the interleukin 10-deficient mouse model of colitis. American journal of physiology. Gastrointestinal and liver physiology, 293, 4, G729-38.

Chambers CV, Shafer MA, Adger H, Ohm-Smith M, Millstein SG, Irwin CE, Jr., et al, 1987. Microflora of the urethra in adolescent boys: relationships to sexual activity and nongonococcal urethritis. The Journal of pediatrics, 110, 2, 314-21.

Chen JY, Tian H, Beigi RH, 2009. Treatment considerations for bacterial vaginosis and the risk of recurrence. Journal of women's health, 18, 12, 1997-2004.

Cherpes TL, Marrazzo JM, Cosentino LA, Meyn LA, Murray PJ, Hillier SL, 2008. Hormonal contraceptive use modulates the local inflammatory response to bacterial vaginosis. Sexually transmitted infections, 84, 1, 57-61.

Cherpes TL, Melan MA, Kant JA, Cosentino LA, Meyn LA, Hillier SL, 2005. Genital tract shedding of herpes simplex virus type 2 in women: effects of hormonal contraception, bacterial vaginosis, and vaginal group B Streptococcus colonization. Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America, 40, 10, 1422-8.

Cherpes TL, Meyn LA, Krohn MA, Lurie JG, Hillier SL, 2003. Association between acquisition of herpes simplex virus type 2 in women and bacterial vaginosis. Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America, 37, 3, 319-25.

Collado MC, Delgado S, Maldonado A, Rodriguez JM, 2009. Assessment of the bacterial diversity of breast milk of healthy women by quantitative real-time PCR. Letters in applied microbiology, 48, 5, 523-8.

Collins MD, Hoyles L, Tornqvist E, von Essen R, Falsen E, 2001. Characterization of some strains from human clinical sources which resemble "Leptotrichia sanguinegens": description of Sneathia sanguinegens sp. nov., gen. nov. Systematic and applied microbiology, 24, 3, 358-61.

Collins MD, Wallbanks S, 1992. Comparative sequence analyses of the 16S rRNA genes of Lactobacillus minutus, Lactobacillus rimae and Streptococcus parvulus: proposal for the creation of a new genus Atopobium. FEMS microbiology letters, 74, 2-3, 235-40.

Criswell BS, Marston JH, Stenback WA, Black SH, Gardner HL, 1971. Haemophilus vaginalis 594, a gram-negative organism? Canadian journal of microbiology, 17, 7, 865-9.

Cu-Uvin S, Hogan JW, Caliendo AM, Harwell J, Mayer KH, Carpenter CC, 2001. Association between bacterial vaginosis and expression of human immunodeficiency virus type 1 RNA in the female genital tract. Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America, 33, 6, 894-6.

Datcu R, 2014. Characterization of the vaginal microflora in health and disease. Danish medical journal, 61, 4, B4830.

Datcu R, Gesink D, Mulvad G, Montgomery-Andersen R, Rink E, Koch A, Ahrens P, Jensen JS, 2014. Bacterial vaginosis diagnosed by analysis of first-void-urine specimens. Journal of clinical microbiology, 52, 1, 218-25.

Doerflinger SY, Throop AL, Herbst-Kralovetz MM, 2014. Bacteria in the vaginal microbiome alter the innate immune response and barrier properties of the human vaginal epithelia in a species-specific manner. The Journal of infectious diseases, 209, 12, 1989-99.

Donders GG, Zodzika J, Rezeberga D, 2014. Treatment of bacterial vaginosis: what we have and what we miss. Expert opinion on pharmacotherapy, 15, 5, 645-57.

Dong Q, Nelson DE, Toh E, Diao L, Gao X, Fortenberry JD, Van der Pol B, 2011. The microbial communities in male first catch urine are highly similar to those in paired urethral swab specimens. PloS one, 6, 5, e19709.

Drell T, Lillsaar T, Tummeleht L, Simm J, Aaspollu A, Vain E, et al, 2013. Characterization of the vaginal micro- and mycobiome in asymptomatic reproductive-age Estonian women. PloS one, 8, 1, e54379.

Global health sector strategy on HIV/AIDS 2011-2015, 2011. Dünya Sağlık Örgütü, Erişim tarihi 15.12.2014. Erişim adresi, http://whqlibdoc.who.int/publications/2011/9789241501651_eng.pdf?ua=1.

Dunkelberg WE, 1977. Corynebacterium vaginale. Sexually transmitted diseases, 4, 2, 69-75.

Dunkelberg WE, Jr., McVeigh I, 1969. Growth requirements of Haemophilus vaginalis. Antonie van Leeuwenhoek, 35, 2, 129-45.

Dunlop EM, Vaughan-Jackson JD, Darougar S, 1972. Chlamydial infection. Improved methods of collection of material for culture from the urogenital tract and rectum. The British journal of venereal diseases, 48, 6, 421-4.

Edmunds PN, 1962. The biochemical, serological and haemagglutinating reactions of "Haemophilus vaginalis". The Journal of pathology and bacteriology, 83, 411-22.

El Aila NA, Tency I, Claeys G, Verstraelen H, Saerens B, Santiago GL, De Backer E, Cools P, Temmerman M, Verhelst R, Vaneechoutte M, 2009. Identification and genotyping of bacteria from paired vaginal and rectal samples from pregnant women indicates similarity between vaginal and rectal microflora. BMC infectious diseases, 9, 167.

Eren AM, Zozaya M, Taylor CM, Dowd SE, Martin DH, Ferris MJ, 2011. Exploring the diversity of Gardnerella vaginalis in the genitourinary tract microbiota of monogamous couples through subtle nucleotide variation. PloS one, 6, 10, e26732.

Falsen E, Pascual C, Sjoden B, Ohlen M, Collins MD, 1999. Phenotypic and phylogenetic characterization of a novel Lactobacillus species from human sources: description of Lactobacillus iners sp. nov. International journal of systematic bacteriology, 49 Pt 1, 217-21.

Fernandez L, Langa S, Martin V, Jimenez E, Martin R, Rodriguez JM, 2013. The microbiota of human milk in healthy women. Cellular and molecular biology (Noisy-le-Grand, France), 59, 1, 31-42.

Ferris MJ, Norori J, Zozaya-Hinchliffe M, Martin DH, 2007. Cultivation-independent analysis of changes in bacterial vaginosis flora following metronidazole treatment. Journal of clinical microbiology, 45, 3, 1016-8.

Fethers K, Twin J, Fairley CK, Fowkes FJ, Garland SM, Fehler G, et al, 2012. Bacterial vaginosis (BV) candidate bacteria: associations with BV and behavioural practices in sexually-experienced and inexperienced women. PloS one, 7, 2, e30633.

Fethers KA, Fairley CK, Hocking JS, Gurrin LC, Bradshaw CS, 2008. Sexual risk factors and bacterial vaginosis: a systematic review and meta-analysis. Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America, 47, 11, 1426-35.

Fethers KA, Fairley CK, Morton A, Hocking JS, Hopkins C, Kennedy LJ, et al, 2009. Early sexual experiences and risk factors for bacterial vaginosis. The Journal of infectious diseases, 200, 11, 1662-70.
Fettweis JM, Serrano MG, Girerd PH, Jefferson KK, Buck GA, 2012. A new era of the vaginal microbiome: advances using next-generation sequencing. Chemistry & biodiversity, 9, 5, 965-76.
Fettweis JM, Serrano MG, Sheth NU, Mayer CM, Glascock AL, Brooks JP, et al, 2012. Species-level classification of the vaginal microbiome. BMC genomics, 13 Suppl 8, S17.
Finegold SM, 1996. Medical Microbiology, Galveston (TX), University of Texas Medical Branch at Galveston, p.
Forney LJ, Gajer P, Williams CJ, Schneider GM, Koenig SS, McCulle SL, et al, 2010. Comparison of self-collected and physician-collected vaginal swabs for microbiome analysis. Journal of clinical microbiology, 48, 5, 1741-8.
Frank DN, Pace NR, 2001. Molecular-phylogenetic analyses of human gastrointestinal microbiota. Current opinion in gastroenterology, 17, 1, 52-7.
Fredricks DN, Fiedler TL, Marrazzo JM, 2005. Molecular identification of bacteria associated with bacterial vaginosis. The New England journal of medicine, 353, 18, 1899-911.
Fredricks DN, Fiedler TL, Thomas KK, Oakley BB, Marrazzo JM, 2007. Targeted PCR for detection of vaginal bacteria associated with bacterial vaginosis. Journal of clinical microbiology, 45, 10, 3270-6.
Gajer P, Brotman RM, Bai G, Sakamoto J, Schutte UM, Zhong X, et al, 2012. Temporal dynamics of the human vaginal microbiota. Science translational medicine, 4, 132, 132ra52.
Gallo MF, Macaluso M, Warner L, Fleenor ME, Hook EW, 3rd, Brill I, Weaver MA, 2012. Bacterial vaginosis, gonorrhea, and chlamydial infection among women attending a sexually transmitted disease clinic: a longitudinal analysis of possible causal links. Annals of epidemiology, 22, 3, 213-20.
Gardner HL, Dukes CD, 1955. Haemophilus vaginalis vaginitis: a newly defined specific infection previously classified non-specific vaginitis. American journal of obstetrics and gynecology, 69, 5, 962-76.
Gasser F, Mandel M, Rogosa M, 1970. Lactobacillus jensenii sp.nov., a new representative of the subgenus Thermobacterium. Journal of general microbiology, 62, 2, 219-22.
Gasser F, Sebald M, 1966. [Nucleic base composition of bacteria of the Lactobacillus genus]. Annales de l'Institut Pasteur, 110, 2, 261-75.
Geizer E, 1970. The occurrence of oxidase-positive non-gonococcal strains on Thayer-Martin selective media used in the laboratory diagnostic of N. gonorrhoeae. Zentralblatt fur Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankheiten und Hygiene. 1. Abt. Medizinisch-hygienische Bakteriologie, Virusforschung und Parasitologie. Originale, 214, 1, 75-8.
Gelber SE, Aguilar JL, Lewis KL, Ratner AJ, 2008. Functional and phylogenetic characterization of Vaginolysin, the human-specific cytolysin from Gardnerella vaginalis. Journal of bacteriology, 190, 11, 3896-903.
Georgijevic A, Cjukic-Ivancevic S, Bujko M, 2000. [Bacterial vaginosis. Epidemiology and risk factors]. Srpski arhiv za celokupno lekarstvo, 128, 1-2, 29-33.
Ghartey JP, Smith BC, Chen Z, Buckley N, Lo Y, Ratner AJ, et al, 2014. Lactobacillus crispatus dominant vaginal microbiome is associated with inhibitory activity of female genital tract secretions against Escherichia coli. PloS one, 9, 5, e96659.
Giuliano AR, van der Loeff MF, Nyitray AG, 2011. Circumcised HIV-infected men and HPV transmission. The Lancet. Infectious diseases, 11, 8, 581-2.
Goldenberg RL, Andrews WW, Yuan AC, MacKay HT, St Louis ME, 1997. Sexually transmitted diseases and adverse outcomes of pregnancy. Clinics in perinatology, 24, 1, 23-41.
Gonzalez R, Maldonado A, Martin V, Mandomando I, Fumado V, Metzner KJ, Sacoor C, Fernandez L, Macete E, Alonso PL, Rodriguez JM, Menendez C, et al, 2013. Breast milk and gut microbiota in African mothers and infants from an area of high HIV prevalence. PloS one, 8, 11, e80299.
Gravett MG, Nelson HP, DeRouen T, Critchlow C, Eschenbach DA, Holmes KK, 1986. Independent associations of bacterial vaginosis and Chlamydia trachomatis infection with adverse pregnancy outcome. Jama, 256, 14, 1899-903.
Gray RH, Kigozi G, Serwadda D, Makumbi F, Watya S, Nalugoda F, et al, 2007. Male circumcision for HIV prevention in men in Rakai, Uganda: a randomised trial. Lancet, 369, 9562, 657-66.

Greenwood JR, Pickett, M. J. , 1980. Transfer of Haemophilus vaginalis Gardner and Dukes to a New Genus, Gardnerella: G. vaginalis (Gardner and Dukes) comb. nov. International journal of systematic bacteriology, 30, 1, 170-8.

Haggerty CL, Totten PA, Ferris M, Martin DH, Hoferka S, Astete SG, et al, 2009. Clinical characteristics of bacterial vaginosis among women testing positive for fastidious bacteria. Sexually transmitted infections, 85, 4, 242-8.

Hammerschlag MR, Alpert S, Rosner I, Thurston P, Semine D, McComb D, et al, 1978. Microbiology of the vagina in children: normal and potentially pathogenic organisms. Pediatrics, 62, 1, 57-62.

Hanff PA, Rosol-Donoghue JA, Spiegel CA, Wilson KH, Moore LH, 1995. Leptotrichia sanguinegens sp. nov., a new agent of postpartum and neonatal bacteremia. Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America, 20 Suppl 2, S237-9.

Harwich MD, Jr., Alves JM, Buck GA, Strauss JF, 3rd, Patterson JL, Oki AT, et al, 2010. Drawing the line between commensal and pathogenic Gardnerella vaginalis through genome analysis and virulence studies. BMC genomics, 11, 375.

Harwich MD, Jr., Serrano MG, Fettweis JM, Alves JM, Reimers MA, Buck GA, et al, 2012. Genomic sequence analysis and characterization of Sneathia amnii sp. nov. BMC genomics, 13 Suppl 8, S4.

Hawes SE, Hillier SL, Benedetti J, Stevens CE, Koutsky LA, Wolner-Hanssen P, et al, 1996. Hydrogen peroxide-producing lactobacilli and acquisition of vaginal infections. The Journal of infectious diseases, 174, 5, 1058-63.

Hillier SL, Nugent RP, Eschenbach DA, Krohn MA, Gibbs RS, Martin DH, et al., 1995. Association between bacterial vaginosis and preterm delivery of a low-birth-weight infant. The Vaginal Infections and Prematurity Study Group. The New England journal of medicine, 333, 26, 1737-42.

Holgerson PL, Vestman NR, Claesson R, Ohman C, Domellof M, Tanner AC, et al, 2013. Oral microbial profile discriminates breast-fed from formula-fed infants. Journal of pediatric gastroenterology and nutrition, 56, 2, 127-36.

Holst E, Mardh PA, Thelin I, 1984. Recovery of anaerobic curved rods and Gardnerella vaginalis from the urethra of men, including male heterosexual consorts of female carriers. Scandinavian journal of urology and nephrology. Supplementum, 86, 173-7.

Horie M, Ishiyama A, Fujihira-Ueki Y, Sillanpaa J, Korhonen TK, Toba T, 2002. Inhibition of the adherence of Escherichia coli strains to basement membrane by Lactobacillus crispatus expressing an S-layer. Journal of applied microbiology, 92, 3, 396-403.

Horie M, Kajikawa HS, Toba T, 2002. Identification of Lactobacillus crispatus by polymerase chain reaction targeting S-layer protein gene. Letters in applied microbiology, 35, 1, 57-61.

Hyman RW, Fukushima M, Diamond L, Kumm J, Giudice LC, Davis RW, 2005. Microbes on the human vaginal epithelium. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 102, 22, 7952-7.

Iatsukha MV, Naftol'eva Iu O, Tanryberdyeva MO, Zasypkina GM, 1978. [Culture diagnosis of trichomoniasis in women and their sexual partners]. Vestnik dermatologii i venerologii, 9, 12-4.

Jakobsson T, Forsum U, 2007. Lactobacillus iners: a marker of changes in the vaginal flora? Journal of clinical microbiology, 45, 9, 3145.

Jarosik GP, Land CB, Duhon P, Chandler R, Jr., Mercer T, 1998. Acquisition of iron by Gardnerella vaginalis. Infection and immunity, 66, 10, 5041-7.

Jensen JS, Hansen HT, Lind K, 1996. Isolation of Mycoplasma genitalium strains from the male urethra. Journal of clinical microbiology, 34, 2, 286-91.

Jespers V, Menten J, Smet H, Poradosu S, Abdellati S, Verhelst R, Hardy L, Buve A, Crucitti T, 2012. Quantification of bacterial species of the vaginal microbiome in different groups of women, using nucleic acid amplification tests. BMC microbiology, 12, 83.

Jones K, Ewigman B, 2011. PURLs: Help for recurrent bacterial vaginosis. The Journal of family practice, 60, 2, 91-3.

Joseph S, Abbai N, Delaney-Moretlwe S, Gafos M, Kapiga S, Chisembele M, Abaasa A, et al, 2014. Bacterial Vaginosis and HIV: An Analysis of the MDP301 Trial. AIDS research and human retroviruses, 30 Suppl 1, A232.

Josey WE, Schwebke JR, 2008. The polymicrobial hypothesis of bacterial vaginosis causation: a reassessment. International journal of STD & AIDS, 19, 3, 152-4.

Kemgang TS, Kapila S, Shanmugam VP, Kapila R, 2014. Cross-talk between probiotic lactobacilli and host immune system. Journal of applied microbiology, 117, 2, 303-19.

Kendall AR, Karafin L, 1969. Injuries to the male genitalia. Anatomy of the male genitalia. Medical trial technique quarterly, 16, 2, 69-74.
Kenyon CR, Colebunders R, 2014. Strong association between the prevalence of bacterial vaginosis and male point-concurrency. European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology, 172, 93-6.
Kinghorn GR, Jones BM, Chowdhury FH, Geary I, 1982. Balanoposthitis associated with Gardnerella vaginalis infection in men. The British journal of venereal diseases, 58, 2, 127-9.
Klebanoff SJ, Hillier SL, Eschenbach DA, Waltersdorph AM, 1991. Control of the microbial flora of the vagina by H2O2-generating lactobacilli. The Journal of infectious diseases, 164, 1, 94-100.
Koumans EH, Markowitz LE, Hogan V, 2002. Indications for therapy and treatment recommendations for bacterial vaginosis in nonpregnant and pregnant women: a synthesis of data. Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America, 35, Suppl 2, S152-72.
Lam MH, Birch DF, 1991. Survival of Gardnerella vaginalis in human urine. American journal of clinical pathology, 95, 2, 234-9.
Lamont RF, Sobel JD, Akins RA, Hassan SS, Chaiworapongsa T, Kusanovic JP, Romero R, 2011. The vaginal microbiome: new information about genital tract flora using molecular based techniques. BJOG : an international journal of obstetrics and gynaecology, 118, 5, 533-49.
Larke N, Thomas SL, Dos Santos Silva I, Weiss HA, 2011. Male circumcision and human papillomavirus infection in men: a systematic review and meta-analysis. The Journal of infectious diseases, 204, 9, 1375-90.
Lee SE, Romero R, Kim EC, Yoon BH, 2009. A high Nugent score but not a positive culture for genital mycoplasmas is a risk factor for spontaneous preterm birth. The journal of maternal-fetal & neonatal medicine : the official journal of the European Association of Perinatal Medicine, the Federation of Asia and Oceania Perinatal Societies, the International Society of Perinatal Obstet, 22, 3, 212-7.
Leli C, Meucci M, Vento S, D'Alo F, Farinelli S, Perito S, Bistoni F, et al, 2013. Microbial and vaginal determinants influencing Mycoplasma hominis and Ureaplasma urealyticum genital colonization in a population of female patients. Le infezioni in medicina : rivista periodica di eziologia, epidemiologia, diagnostica, clinica e terapia delle patologie infettive, 21, 3, 201-6.
Leopold S, 1953. Heretofore undescribed organism isolated from the genitourinary system. United States Armed Forces medical journal, 4, 2, 263-6.
Ling Z, Kong J, Liu F, Zhu H, Chen X, Wang Y, et al, 2010. Molecular analysis of the diversity of vaginal microbiota associated with bacterial vaginosis. BMC genomics, 11, 488.
Liu CM, Hungate BA, Tobian AA, Serwadda D, Ravel J, Lester R, et al, 2013. Male circumcision significantly reduces prevalence and load of genital anaerobic bacteria. mBio, 4, 2, e00076.
Lorenzo Pisarello MJ, Vintini EO, Gonzalez SN, Pagani F, Medina MS, 2014. Decrease in lactobacilli in the intestinal microbiota of celiac children with a gluten-free diet, and selection of potentially probiotic strains. Canadian journal of microbiology, 1-6.
Luong ML, Libman M, Dahhou M, Chen MF, Kahn SR, Goulet L, et al, 2010. Vaginal douching, bacterial vaginosis, and spontaneous preterm birth. Journal of obstetrics and gynaecology Canada : JOGC = Journal d'obstetrique et gynecologie du Canada : JOGC, 32, 4, 313-20.
Machado A, Jefferson KK, Cerca N, 2013. Interactions between Lactobacillus crispatus and Bacterial Vaginosis (BV)-Associated Bacterial Species in Initial Attachment and Biofilm Formation. International journal of molecular sciences, 14, 6, 12004-12.
Macklaim JM, Gloor GB, Anukam KC, Cribby S, Reid G, 2011. At the crossroads of vaginal health and disease, the genome sequence of Lactobacillus iners AB-1. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 108 Suppl 1, 4688-95.
Makarova K, Slesarev A, Wolf Y, Sorokin A, Mirkin B, Koonin E, et al, 2006. Comparative genomics of the lactic acid bacteria. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 103, 42, 15611-6.
Manhart LE, Khosropour CM, Liu C, Gillespie CW, Depner K, Fiedler T, et al, 2013. Bacterial vaginosis-associated bacteria in men: association of Leptotrichia/Sneathia spp. with nongonococcal urethritis. Sexually transmitted diseases, 40, 12, 944-9.
Marconi C, Cruciani F, Vitali B, Donders GG, 2012. Correlation of Atopobium vaginae Amount With Bacterial Vaginosis Markers. Journal of lower genital tract disease, 16, 2, 127-32.
Marconi C, Donders GG, Parada CM, Giraldo PC, da Silva MG, 2013. Do Atopobium vaginae, Megasphaera sp. and Leptotrichia sp. change the local innate immune response and sialidase activity in bacterial vaginosis? Sexually transmitted infections, 89, 2, 167-73.

Marcotte H, Lavoie MC, 1998. Oral microbial ecology and the role of salivary immunoglobulin A. Microbiology and molecular biology reviews : MMBR, 62, 1, 71-109.
Marrazzo JM, Thomas KK, Fiedler TL, Ringwood K, Fredricks DN, 2010. Risks for acquisition of bacterial vaginosis among women who report sex with women: a cohort study. PloS one, 5, 6, e11139.
Masfari AN, Kinghorn GR, Duerden BI, 1983. Anaerobes in genitourinary infections in men. The British journal of venereal diseases, 59, 4, 255-9.
Mazuecos J, Aznar J, Rodriguez-Pichardo A, Marmesat F, Borobio MV, Perea EJ, et al, 1998. Anaerobic bacteria in men with urethritis. Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology : JEADV, 10, 3, 237-42.
McDermott MR, Clark DA, Bienenstock J, 1980. Evidence for a common mucosal immunologic system. II. Influence of the estrous cycle on B immunoblast migration into genital and intestinal tissues. Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950), 124, 6, 2536-9.
McMillan A, Dell M, Zellar MP, Cribby S, Martz S, Hong E, et al, 2011. Disruption of urogenital biofilms by lactobacilli. Colloids and surfaces. B, Biointerfaces, 86, 1, 58-64.
Meis PJ, Goldenberg RL, Mercer B, Moawad A, Das A, McNellis D, et al, 1995. The preterm prediction study: significance of vaginal infections. National Institute of Child Health and Human Development Maternal-Fetal Medicine Units Network. American journal of obstetrics and gynecology, 173, 4, 1231-5.
Menard JP, Fenollar F, Henry M, Bretelle F, Raoult D, 2008. Molecular quantification of Gardnerella vaginalis and Atopobium vaginae loads to predict bacterial vaginosis. Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America, 47, 1, 33-43.
Mengel MB, Berg AO, Weaver CH, Herman DJ, Herman SJ, Hughes VL, et al, 1989. The effectiveness of single-dose metronidazole therapy for patients and their partners with bacterial vaginosis. The Journal of family practice, 28, 2, 163-71.
Mestecky J, Fultz PN, 1999. Mucosal immune system of the human genital tract. The Journal of infectious diseases, 179 Suppl 3, S470-4.
Mestecky J, Moldoveanu Z, Russell MW, 2005. Immunologic uniqueness of the genital tract: challenge for vaccine development. American journal of reproductive immunology, 53, 5, 208-14.
Mestecky J, Moldoveanu Z, Smith PD, Hel Z, Alexander RC, 2009. Mucosal immunology of the genital and gastrointestinal tracts and HIV-1 infection. Journal of reproductive immunology, 83, 1-2, 196-200.
Mikamo H, Sato Y, Hayasaki Y, Hua YX, Tamaya T, 2000. Vaginal microflora in healthy women with Gardnerella vaginalis. Journal of infection and chemotherapy : official journal of the Japan Society of Chemotherapy, 6, 3, 173-7.
Milewicz T, Hejnar J, Jach R, Jaworowski AP, Piskorz T, Gach A, et al, 2010. [Bacterial vaginosis and preterm delivery risk]. Przeglad lekarski, 67, 2, 119-22.
Mitchell C, Manhart LE, Thomas KK, Agnew K, Marrazzo JM, 2011. Effect of sexual activity on vaginal colonization with hydrogen peroxide-producing lactobacilli and Gardnerella vaginalis. Sexually transmitted diseases, 38, 12, 1137-44.
Mitchell C, Moreira C, Fredricks D, Paul K, Caliendo AM, Kurpewski J, et al, 2009. Detection of fastidious vaginal bacteria in women with HIV infection and bacterial vaginosis. Infectious diseases in obstetrics and gynecology, 2009, 236919.
Mitsuoka T, 1992. The human gastrointestinal tract. In The Lactic Acid Bacteria. In: The Lactic Acid Bacteria in Health and Disease. Eds: Wood MP. London Elsevier Applied Science, p. 69-114.
Miyamoto T, Horie T, Fujiwara T, Fukata T, Sasai K, Baba E, 2000. Lactobacillus flora in the cloaca and vagina of hens and its inhibitory activity against Salmonella enteritidis in vitro. Poultry science, 79, 1, 7-11.
Moldoveanu Z, Huang WQ, Kulhavy R, Pate MS, Mestecky J, 2005. Human male genital tract secretions: both mucosal and systemic immune compartments contribute to the humoral immunity. Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950), 175, 6, 4127-36.
Moss S, 1983. Isolation and identification of anaerobic organisms from the male and female urogenital tracts. The British journal of venereal diseases, 59, 3, 182-5.
Mueller S, Saunier K, Hanisch C, Norin E, Alm L, Midtvedt T, et al, 2006. Differences in fecal microbiota in different European study populations in relation to age, gender, and country: a cross-sectional study. Applied and environmental microbiology, 72, 2, 1027-33.
Nardis C, Mosca L, Mastromarino P, 2013. Vaginal microbiota and viral sexually transmitted diseases. Annali di igiene : medicina preventiva e di comunita, 25, 5, 443-56.

Nasu K, Narahara H, 2010. Pattern recognition via the toll-like receptor system in the human female genital tract. Mediators of inflammation, 2010, 976024.
Nelson DB, Hanlon A, Nachamkin I, Haggerty C, Mastrogiannis DS, Liu C, et al, 2014. Early pregnancy changes in bacterial vaginosis-associated bacteria and preterm delivery. Paediatric and perinatal epidemiology, 28, 2, 88-96.
Nelson DE, Dong Q, Van der Pol B, Toh E, Fan B, Katz BP, et al, 2012. Bacterial communities of the coronal sulcus and distal urethra of adolescent males. PloS one, 7, 5, e36298.
Nelson DE, Van Der Pol B, Dong Q, Revanna KV, Fan B, Easwaran S, et al, 2010. Characteristic male urine microbiomes associate with asymptomatic sexually transmitted infection. PloS one, 5, 11, e14116.
Nibali L, Henderson B, Sadiq ST, Donos N, 2014. Genetic dysbiosis: the role of microbial insults in chronic inflammatory diseases. Journal of oral microbiology, 6.
Nugent RP, Krohn MA, Hillier SL, 1991. Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of gram stain interpretation. Journal of clinical microbiology, 29, 2, 297-301.
O'Donnell AG, Minnikin DE, Goodfellow M, Piot P, 1984. Fatty acid, polar lipid and wall amino acid composition of Gardnerella vaginalis. Archives of microbiology, 138, 1, 68-71.
Oakley BB, Fiedler TL, Marrazzo JM, Fredricks DN, 2008. Diversity of human vaginal bacterial communities and associations with clinically defined bacterial vaginosis. Applied and environmental microbiology, 74, 15, 4898-909.
Owen DH, Katz DF, 1999. A vaginal fluid simulant. Contraception, 59, 2, 91-5.
Paavonen J, 1983. Physiology and ecology of the vagina. Scandinavian journal of infectious diseases. Supplementum, 40, 31-5.
Pavlova SI, Kilic AO, Kilic SS, So JS, Nader-Macias ME, Simoes JA, et al, 2002. Genetic diversity of vaginal lactobacilli from women in different countries based on 16S rRNA gene sequences. Journal of applied microbiology, 92, 3, 451-9.
Petrova MI, van den Broek M, Balzarini J, Vanderleyden J, Lebeer S, 2013. Vaginal microbiota and its role in HIV transmission and infection. FEMS microbiology reviews, 37, 5, 762-92.
Price LB, Liu CM, Johnson KE, Aziz M, Lau MK, Bowers J, et al, 2010. The effects of circumcision on the penis microbiome. PloS one, 5, 1, e8422.
Pudney J, Anderson D, 2011. Innate and acquired immunity in the human penile urethra. Journal of reproductive immunology, 88, 2, 219-27.
Pudney J, Anderson DJ, 1995. Immunobiology of the human penile urethra. The American journal of pathology, 147, 1, 155-65.
Quigley EM, 2013. Gut bacteria in health and disease. Gastroenterology & hepatology, 9, 9, 560-9.
Redondo-Lopez V, Cook RL, Sobel JD, 1990. Emerging role of lactobacilli in the control and maintenance of the vaginal bacterial microflora. Reviews of infectious diseases, 12, 5, 856-72.
Reyn A, Birch-Andersen A, Lapage SP, 1966. An electron microscope study of thin sections of Haemophilus vaginalis (Gardner and Dukes) and some possibly related species. Canadian journal of microbiology, 12, 6, 1125-36.
Rizzo A, Losacco A, Carratelli CR, 2013. Lactobacillus crispatus modulates epithelial cell defense against Candida albicans through Toll-like receptors 2 and 4, interleukin 8 and human beta-defensins 2 and 3. Immunology letters, 156, 1-2, 102-9.
Robinson CJ, Bohannan BJ, Young VB, 2010. From structure to function: the ecology of host-associated microbial communities. Microbiology and molecular biology reviews : MMBR, 74, 3, 453-76.
Rodriguez Jovita M, Collins MD, Sjoden B, Falsen E, 1999. Characterization of a novel Atopobium isolate from the human vagina: description of Atopobium vaginae sp. nov. International journal of systematic bacteriology, 49 Pt 4, 1573-6.
Rositch AF, Mao L, Hudgens MG, Moses S, Agot K, Backes DM, et al, 2014. Risk of HIV acquisition among circumcised and uncircumcised young men with penile human papillomavirus infection. Aids, 28, 5, 745-52.
Russell MW, Mestecky J, 2002. Humoral immune responses to microbial infections in the genital tract. Microbes and infection / Institut Pasteur, 4, 6, 667-77.
Russell MW, Mestecky J, 2010. Tolerance and protection against infection in the genital tract. Immunological investigations, 39, 4-5, 500-25.
Russo CL, Spurr-Michaud S, Tisdale A, Pudney J, Anderson D, Gipson IK, 2006. Mucin gene expression in human male urogenital tract epithelia. Human reproduction, 21, 11, 2783-93.

Sadhu K, Domingue PA, Chow AW, Nelligan J, Cheng N, Costerton JW, 1989. Gardnerella vaginalis has a gram-positive cell-wall ultrastructure and lacks classical cell-wall lipopolysaccharide. Journal of medical microbiology, 29, 3, 229-35.

Santiago GL, Deschaght P, El Aila N, Kiama TN, Verstraelen H, Jefferson KK, et al, 204, 5, 450.e1-7.

Saunders S, Bocking A, Challis J, Reid G, 2007. Effect of Lactobacillus challenge on Gardnerella vaginalis biofilms. Colloids and surfaces. B, Biointerfaces, 55, 2, 138-42.

Schwebke JR, Desmond R, 2005. Risk factors for bacterial vaginosis in women at high risk for sexually transmitted diseases. Sexually transmitted diseases, 32, 11, 654-8.

Schwebke JR, Desmond RA, Oh MK, 2004. Predictors of bacterial vaginosis in adolescent women who douche. Sexually transmitted diseases, 31, 7, 433-6.

Schwebke JR, Flynn MS, Rivers CA, 2014. Prevalence of Gardnerella vaginalis among women with lactobacillus-predominant vaginal flora. Sexually transmitted infections, 90, 1, 61-3.

Schwebke JR, Richey CM, Weiss HL, 1999. Correlation of behaviors with microbiological changes in vaginal flora. The Journal of infectious diseases, 180, 5, 1632-6.

Schwebke JR, Rivers C, Lee J, 2009. Prevalence of Gardnerella vaginalis in male sexual partners of women with and without bacterial vaginosis. Sexually transmitted diseases, 36, 2, 92-4.

Selle K, Klaenhammer TR, 2013. Genomic and phenotypic evidence for probiotic influences of Lactobacillus gasseri on human health. FEMS microbiology reviews, 37, 6, 915-35.

Sha BE, Zariffard MR, Wang QJ, Chen HY, Bremer J, Cohen MH, et al, 2005. Female genital-tract HIV load correlates inversely with Lactobacillus species but positively with bacterial vaginosis and Mycoplasma hominis. The Journal of infectious diseases, 191, 1, 25-32.

Shreiner AB, Kao JY, Young VB, 2015. The gut microbiome in health and in disease. Current opinion in gastroenterology, 31, 1, 69-75.

Silva D, Henriques A, Cereija T, Martinez-de-Oliveira J, Miranda M, Cerca N, 2014. Prevalence of Gardnerella vaginalis and Atopobium vaginae in Portuguese women and association with risk factors for bacterial vaginosis. International journal of gynaecology and obstetrics: the official organ of the International Federation of Gynaecology and Obstetrics, 124, 2, 178-9.

Smith BC, McAndrew T, Chen Z, Harari A, Barris DM, Viswanathan S, et al, 2012. The cervical microbiome over 7 years and a comparison of methodologies for its characterization. PloS one, 7, 7, e40425.

Smith SM, Ogbara T, Eng RH, 1992. Involvement of Gardnerella vaginalis in urinary tract infections in men. Journal of clinical microbiology, 30, 6, 1575-7.

Soffer Y, Ron-El R, Golan A, Herman A, Caspi E, Samra Z, 1990. Male genital mycoplasmas and Chlamydia trachomatis culture: its relationship with accessory gland function, sperm quality, and autoimmunity. Fertility and sterility, 53, 2, 331-6.

Song Y, Kato N, Liu C, Matsumiya Y, Kato H, Watanabe K, 2000. Rapid identification of 11 human intestinal Lactobacillus species by multiplex PCR assays using group- and species-specific primers derived from the 16S-23S rRNA intergenic spacer region and its flanking 23S rRNA. FEMS microbiology letters, 187, 2, 167-73.

Song YL, Kato N, Matsumiya Y, Liu CX, Kato H, Watanabe K, 1999. Identification of and hydrogen peroxide production by fecal and vaginal lactobacilli isolated from Japanese women and newborn infants. Journal of clinical microbiology, 37, 9, 3062-4.

Spear GT, Gilbert D, Landay AL, Zariffard R, French AL, Patel P, et al, 2011. Pyrosequencing of the genital microbiotas of HIV-seropositive and -seronegative women reveals Lactobacillus iners as the predominant Lactobacillus Species. Applied and environmental microbiology, 77, 1, 378-81.

Spiegel CA, Marylin, R., 1984. Mobiluncus gen. nov. Mobiluncus curtisii subsp. curtisii sp. nov. Mobiluncus curtisii subsp. holmesii subsp. nov. and Mobiluncus mulieris sp. nov., Curved Rods from the Human Vagina. International journal of systematic bacteriology, 34, 2, 177-84.

Spurbeck RR, Arvidson CG, 2008. Inhibition of Neisseria gonorrhoeae epithelial cell interactions by vaginal Lactobacillus species. Infection and immunity, 76, 7, 3124-30.

Spurbeck RR, Arvidson CG, 2010. Lactobacillus jensenii surface-associated proteins inhibit Neisseria gonorrhoeae adherence to epithelial cells. Infection and immunity, 78, 7, 3103-11.

Srinivasan S, Fredricks DN, 2008. The human vaginal bacterial biota and bacterial vaginosis. Interdisciplinary perspectives on infectious diseases, 2008, 750479.

Srinivasan S, Hoffman NG, Morgan MT, Matsen FA, Fiedler TL, Hall RW, et al, 2012. Bacterial communities in women with bacterial vaginosis: high resolution phylogenetic analyses reveal relationships of microbiota to clinical criteria. PloS one, 7, 6, e37818.

Stackebrandt E, Zeytun A, Lapidus A, Nolan M, Lucas S, Hammon N, et al, 2013. Complete genome sequence of Coriobacterium glomerans type strain (PW2(T)) from the midgut of Pyrrhocoris apterus L. (red soldier bug). Standards in genomic sciences, 8, 1, 15-25.

Suarez-Garcia I, Sanchez-Garcia A, Soler L, Malmierca E, Gomez-Cerezo J, 2012. Lactobacillus jensenii bacteremia and endocarditis after dilatation and curettage: case report and literature review. Infection, 40, 2, 219-22.

Swidsinski A, Doerffel Y, Loening-Baucke V, Swidsinski S, Verstraelen H, Vaneechoutte M, et al, 2010. Gardnerella biofilm involves females and males and is transmitted sexually. Gynecologic and obstetric investigation, 70, 4, 256-63.

Swidsinski A, Dorffel Y, Loening-Baucke V, Mendling W, Verstraelen H, Dieterle S, et al, 2010. Desquamated epithelial cells covered with a polymicrobial biofilm typical for bacterial vaginosis are present in randomly selected cryopreserved donor semen. FEMS immunology and medical microbiology, 59, 3, 399-404.

Swidsinski A, Mendling W, Loening-Baucke V, Ladhoff A, Swidsinski S, Hale LP, et al, 2005. Adherent biofilms in bacterial vaginosis. Obstetrics and gynecology, 106, 5 Pt 1, 1013-23.

Swidsinski A, Mendling W, Loening-Baucke V, Swidsinski S, Dorffel Y, Scholze J, et al, 2008. An adherent Gardnerella vaginalis biofilm persists on the vaginal epithelium after standard therapy with oral metronidazole. American journal of obstetrics and gynecology, 198, 1, 97.e1-6.

Taha TE, Hoover DR, Dallabetta GA, Kumwenda NI, Mtimavalye LA, Yang LP, et al, 1998. Bacterial vaginosis and disturbances of vaginal flora: association with increased acquisition of HIV. Aids, 12, 13, 1699-706.

Tamrakar R, Yamada T, Furuta I, Cho K, Morikawa M, Yamada H, et al, 2007. Association between Lactobacillus species and bacterial vaginosis-related bacteria, and bacterial vaginosis scores in pregnant Japanese women. BMC infectious diseases, 7, 128.

Tanagho EA, 2009. Ürogenital Sistemin Anatomisi. In: Smith Genel Üroloji. Eds: Kazancı G, 17. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, p. 1-16.

Tanner MA, Shoskes D, Shahed A, Pace NR, 1999. Prevalence of corynebacterial 16S rRNA sequences in patients with bacterial and "nonbacterial" prostatitis. Journal of clinical microbiology, 37, 6, 1863-70.

Tarnberg M, Jakobsson T, Jonasson J, Forsum U, 2002. Identification of randomly selected colonies of lactobacilli from normal vaginal fluid by pyrosequencing of the 16S rDNA variable V1 and V3 regions. APMIS : acta pathologica, microbiologica, et immunologica Scandinavica, 110, 11, 802-10.

Taylor-Robinson D, 1984. The bacteriology of Gardnerella vaginalis. Scandinavian journal of urology and nephrology. Supplementum, 86, 41-55.

Terho P, Meurman O, 1981. Chlamydial serum IgG, IgA and local IgA antibodies in patients with genital-tract infections measured by solid-phase radioimmunoassay. Journal of medical microbiology, 14, 1, 77-87.

Tobian AA, Kacker S, Quinn TC, 2014. Male circumcision: a globally relevant but under-utilized method for the prevention of HIV and other sexually transmitted infections. Annual review of medicine, 65, 293-306.

Tobian AA, Serwadda D, Quinn TC, Kigozi G, Gravitt PE, Laeyendecker O, et al, 2009. Male circumcision for the prevention of HSV-2 and HPV infections and syphilis. The New England journal of medicine, 360, 13, 1298-309.

Todoriki K, Mukai T, Sato S, Toba T, 2001. Inhibition of adhesion of food-borne pathogens to Caco-2 cells by Lactobacillus strains. Journal of applied microbiology, 91, 1, 154-9.

Trama JP, Pascal KE, Zimmerman J, Self MJ, Mordechai E, Adelson ME, 2008. Rapid detection of Atopobium vaginae and association with organisms implicated in bacterial vaginosis. Molecular and cellular probes, 22, 2, 96-102.

Turnbaugh PJ, Hamady M, Yatsunenko T, Cantarel BL, Duncan A, Ley RE, et al, 2009. A core gut microbiome in obese and lean twins. Nature, 457, 7228, 480-4.

Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, Magrini V, Mardis ER, Gordon JI, 2006. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. Nature, 444, 7122, 1027-31.

Turovskiy Y, Sutyak Noll K, Chikindas ML, 2011. The aetiology of bacterial vaginosis. Journal of applied microbiology, 110, 5, 1105-28.

Vallor AC, Antonio MA, Hawes SE, Hillier SL, 2001. Factors associated with acquisition of, or persistent colonization by, vaginal lactobacilli: role of hydrogen peroxide production. The Journal of infectious diseases, 184, 11, 1431-6.

van de Wijgert JH, Borgdorff H, Verhelst R, Crucitti T, Francis S, Verstraelen H, et al, 2014. The vaginal microbiota: what have we learned after a decade of molecular characterization? PloS one, 9, 8, e105998.
van Oostrum N, De Sutter P, Meys J, Verstraelen H, 2013. Risks associated with bacterial vaginosis in infertility patients: a systematic review and meta-analysis. Human reproduction, 28, 7, 1809-15.
Van Tyne D, Gilmore MS, 2014. A delicate balance: maintaining mutualism to prevent disease. Cell host & microbe, 16, 4, 425-7.
Vejtorp M, Bollerup AC, Vejtorp L, Fanoe E, Nathan E, Reiter A, et al, 1988. Bacterial vaginosis: a double-blind randomized trial of the effect of treatment of the sexual partner. British journal of obstetrics and gynaecology, 95, 9, 920-6.
Verhelst R, Verstraelen H, Claeys G, Verschraegen G, Delanghe J, Van Simaey L, et al, 2004. Cloning of 16S rRNA genes amplified from normal and disturbed vaginal microflora suggests a strong association between Atopobium vaginae, Gardnerella vaginalis and bacterial vaginosis. BMC microbiology, 4, 16.
Verstraelen H, Verhelst R, Claeys G, De Backer E, Temmerman M, Vaneechoutte M, 2009. Longitudinal analysis of the vaginal microflora in pregnancy suggests that L. crispatus promotes the stability of the normal vaginal microflora and that L. gasseri and/or L. iners are more conducive to the occurrence of abnormal vaginal microflora. BMC microbiology, 9, 116.
Verstraelen H, Verhelst R, Vaneechoutte M, Temmerman M, 2010. The epidemiology of bacterial vaginosis in relation to sexual behaviour. BMC infectious diseases, 10, 81.
von Nicolai H, Hammann R, Salehnia S, Zilliken F, 1984. A newly discovered sialidase from Gardnerella vaginalis. Zentralblatt fur Bakteriologie, Mikrobiologie, und Hygiene. Series A, Medical microbiology, infectious diseases, virology, parasitology, 258, 1, 20-6.
Vutyavanich T, Pongsuthirak P, Vannareumol P, Ruangsri RA, Luangsook P, 1993. A randomized double-blind trial of tinidazole treatment of the sexual partners of females with bacterial vaginosis. Obstetrics and gynecology, 82, 4 Pt 1, 550-4.
Wagner RD, Johnson SJ, 2012. Probiotic lactobacillus and estrogen effects on vaginal epithelial gene expression responses to Candida albicans. Journal of biomedical science, 19, 58.
Wall R, Fitzgerald G, Hussey S, Ryan T, Murphy B, Ross P, Stanton C, 2007. Genomic diversity of cultivable Lactobacillus populations residing in the neonatal and adult gastrointestinal tract. FEMS microbiology ecology, 59, 1, 127-37.
Wang B, Xiao BB, Shang CG, Wang K, Na RS, Nu XX, et al, 2014. Molecular analysis of the relationship between specific vaginal bacteria and bacterial vaginosis metronidazole therapy failure. European journal of clinical microbiology & infectious diseases : official publication of the European Society of Clinical Microbiology, 33, 10, 1749-56.
Watts DH, 2012. Mother to child transmission of HIV--another complication of bacterial vaginosis? Journal of acquired immune deficiency syndromes, 60, 3, 221-4.
Wiesenfeld HC, Hillier SL, Krohn MA, Landers DV, Sweet RL, 2003. Bacterial vaginosis is a strong predictor of Neisseria gonorrhoeae and Chlamydia trachomatis infection. Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America, 36, 5, 663-8.
Wilks M, Wiggins R, Whiley A, Hennessy E, Warwick S, Porter H, et al, 2004. Identification and H(2)O(2) production of vaginal lactobacilli from pregnant women at high risk of preterm birth and relation with outcome. Journal of clinical microbiology, 42, 2, 713-7.
Willen M, Holst E, Myhre EB, Olsson AM, 1996. The bacterial flora of the genitourinary tract in healthy fertile men. Scandinavian journal of urology and nephrology, 30, 5, 387-93.
Yang J, Cao Y, Cai Y, Terada F, 2010. Natural populations of lactic acid bacteria isolated from vegetable residues and silage fermentation. Journal of dairy science, 93, 7, 3136-45.
Yang R, Argimon S, Li Y, Gu H, Zhou X, Caufield PW, 2010. Determining the genetic diversity of lactobacilli from the oral cavity. Journal of microbiological methods, 82, 2, 163-9.
Yeoman CJ, Yildirim S, Thomas SM, Durkin AS, Torralba M, Sutton G, et al, 2010. Comparative genomics of Gardnerella vaginalis strains reveals substantial differences in metabolic and virulence potential. PloS one, 5, 8, e12411.
Yotebieng M, Turner AN, Hoke TH, Van Damme K, Rasolofomanana JR, Behets F, 2009. Effect of consistent condom use on 6-month prevalence of bacterial vaginosis varies by baseline BV status. Tropical medicine & international health : TM & IH, 14, 4, 480-6.
Zhou X, Bent SJ, Schneider MG, Davis CC, Islam MR, Forney LJ, 2004. Characterization of vaginal microbial communities in adult healthy women using cultivation-independent methods. Microbiology, 150, Pt 8, 2565-73.

Zhou X, Brown CJ, Abdo Z, Davis CC, Hansmann MA, Joyce P, et al, 2007. Differences in the composition of vaginal microbial communities found in healthy Caucasian and black women. The ISME journal, 1, 2, 121-33.

Zhou X, Westman R, Hickey R, Hansmann MA, Kennedy C, Osborn TW, et al, 2009. Vaginal microbiota of women with frequent vulvovaginal candidiasis. Infection and immunity, 77, 9, 4130-5.

Zinnemann K, Turner, G. C., 1963. The taxonomic position of Haemophilus vaginalis (Corynebacterium vaginale). The Journal of pathology and bacteriology, 85, 213-9.

Zozaya-Hinchliffe M, Lillis R, Martin DH, Ferris MJ, 2010. Quantitative PCR assessments of bacterial species in women with and without bacterial vaginosis. Journal of clinical microbiology, 48, 5, 1812-9.

ÖZET

T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

Erkek Üretrasında Bakteriyel Vaginozis İle İlişkili Bakterilerin Tanımlanması

Ayşe Rüveyda Uğur

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

TIPTA UZMANLIK TEZİ/Konya, 2015

Bakteriyel vaginozis, üreme çağındaki kadınlarda en yaygın vajinal hastalıktır. Etiyolojisi hala netlik kazanmamakla beraber, vajende yer alan *Lactobacillus* türlerinin yerini bakteriyel vaginozis ile iliskili kompleks anaerob bakteri topluluklarının almasıyla ortaya çıktığı düsünülmektedir. İnsan vajeninde yer alan mikrobiyota (belli bir çevrede bulunan mikroorganizmaların tamamı) kadın, doğum öncesi fetüs ve doğum sonrası yenidoğan sağlığını olumsuz etkileyebilmektedir. Komplike olması durumunda bakteriyel vaginozis, pelvik inflamatuvar hastalık; erken doğum, düsük doğum ağırlığı, postpartum endometrit gibi gebelik komplikasyonlarına ve bunlara bağlı olarak ciddi sağlık sorunlarına ve büyük bir ekonomik yüke neden olabilmektedir. Bunlara ek olarak bakteriyel vaginozis, HIV ve diğer cinsel yolla bulaşan hastalıkların bulaşma riskini de artırmaktadır.

Bakteriyel vaginoziste, mikrobiyota dengesinin laktobasillerden anaerob bakteriler lehine kaymasına neden olan başlatıcı faktör cinsel ilişki midir? Ortak embriyolojik kaynakları nedeniyle erkek ve kadın ürogenital kanallarının barındırdıkları bakteri topluluklarının da benzer olması şaşırtıcı olmayacaktır. Çalışmamızda, erkek üretrasında bakteriyel vaginozis ile ilişkili bakterilerin PCR yöntemi ile araştırılması ve bakteriyel vaginozis etiyolojisinin aydınlatılmasına dolaylı olarak katkı sağlanması amaçlanmıştır.

Çalışmamızda Ocak-Haziran 2014 tarihlerinde, Konya'da, 19-60 yaslarında 114 sağlıklı erkek gönüllüden toplanan ilk akım idrar örneklerinden bakteri DNA izolasyonu yapılmıştır. *Lactobacillus spp., Lactobacillus crispatus, Lactobacillus iners, Lactobacillus jensenii, Lactobacillus gasseri, Gardnerella vaginalis, Atopobium vaginae,* Bacterial vaginosis associated bacterium1,2,3, *Mobiluncus mulieris, Prevotella* spp*, Corynebacterium* spp*., Leptotrichia/Sneathia, Peptoniphilus* spp*., Peptoniphilus lacrimalis, Eggerthella*-benzeri bakteri *ve Megashaera* tip1 bakterilerine yönelik PCR yapılmıştır. Erkek üretrasında en sık belirlenen bakteriler *Lactobacillus spp.* (%88.6), *Peptoniphilus* spp. (%53.5), *L. iners* (%51.8), *G. vaginalis* (%50.9), *A. vaginae* (%20.2) ve *Corynebacterium* spp. (14.9) olarak belirlenmiştir. Bakterilerin sıklığı ile cinsel ilişki arasında ilişki belirlenememiştir. *G. vaginalis* ile *A. vaginae*'nın birlikteliği istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Bakteri hedefli PCR ile bu bakterilerin sağlıklı Türk erkeklerin üretralarında ne sıklıkla yer aldığı belirlenmiştir. Erkek üretrasında, bakteriyel vaginozis etiopatogenezinde önemli yerleri olan *G. vaginalis* ve *A. vaginae*'nın birliktelikleri bildiğimiz kadarıyla ilk kez çalışmamızda saptanmıştır. Çalışmamız, her ne kadar bir genelleme yapılamayacak kadar küçük ölçekli olsa da, erkek üretrasındaki bu birlikteliği göstermesi bakımından BV patogenezini aydınlatma konusunda yapılanlara ve yapılacak olanlara küçük bir katkı sağlayacaktır.

Anahtar Kelimeler: Bakteriyel vaginozis, üretra, Gardnerella vaginalis, Atopobium vaginae

Summary

Identification of Bacterial Vaginosis-Associated Bacteria in Male Urethra

Bacterial vaginosis is the most common vaginal disorder in women of reproductive age. Altough the etiology of bacterial vaginosis has yet to be determined, it is likely that bacterial vaginosis represents a condition in which the *Lactobacilli* are replaced by high quantities of anaerobes. The microbiota (The overall microorganisms in a certain environment) of human vagina can affect a woman's and her fetus' health adversely. If complicated, bacterial vaginosis causes serious health problems including pelvic inflammatory disease and adverse pregnancy outcomes such as preterm delivery, low birth weight and post-partum endometritis. It also causes a big economic burden because of its high recurrency and treatment resistancy rates. In addition, women suffering from bacterial vaginosis are at an increased risk for acquisition of HIV and other sexually transmitted infections.

Though bacterial vaginosis has been strongly linked to sexual behaviour, an endless controversy over the sexual transmission of bacterial vaginosis remains elusive. Does sexual activity initiate a transition in vaginal microflora from *Lactobacilli* to anaerobic bacteria? Since both male and female urogenital tracts share a common embriyonic origin, harboring similar bacterial communities would not be surprising. In our study, we aimed to investigate bacterial vaginosis associated bacteria in male urethra by bacterium specific PCR assay and make an indirect contribution to the etiology of bacterial vaginosis.

First-catch urine specimens, representative of urethral swabs, from 114 healthy male volunteers were collected between January-June 2014, in Konya/Turkey. DNA was extracted from urine specimens. *Lactobacillus spp., Lactobacillus crispatus, Lactobacillus jensenii, Lactobacillus gasseri, Lactobacillus iners, Gardnerella vaginalis*, *Atopobium vaginae*, BVAB1, BVAB2, BVAB3, *Megasphaera* type I, *Prevotella* spp. *Mobiluncus mulieris*, *Corynebacterium* spp., *Leptotrichia/Sneathia*, *Peptoniphilus* spp., *Peptoniphilus lacrimalis*, and *Eggerthella*-like bacterium were investigated by species-specific PCR assay. The most common species were *Lactobacillus spp.* (88.6%), *Peptoniphilus* spp. (53.5%), *L. iners* (51.8%), *G. vaginalis* (50.9%), *A. vaginae* (20.2%) ve *Corynebacterium* spp. (14.9%) There was no significant relation between any BV-associated bacterium and sexual exposure. The only significant difference was in the co-occurrence of *A. vaginae* and *G. vaginalis* in the male urethra independently of sexual exposure.

In our study, prevalences of bacterial vaginosis associated bacteria in healty Turkish male urerthra were determined. According to our knowledge, in our study, co-occurence of *G. vaginalis* and *A. vaginae* in male urethra was detected for the first time. Although the study population is too small for generalization of the results, this study will give inspiration to future studies to elucidate etiology of bacterial vaginosis.

Key words: Bacterial vaginosis, urethra, *Gardnerella vaginalis, Atopobium vaginae*

EKLER

EK. A-1: Onam Formu

Sayın Gönüllü,

Vereceğiniz ilk akım idrar örneğinizde, bakteriyel vaginosisle (kadınlarda en yaygın vajinal yakınma nedeni) ilişkili bazı bakteriler moleküler bir yöntem olan PCR ile araştırılacak ve sonuçlar tarafımızdan kaydedilerek yorumlanacaktır. Bu çalışma ile erkek üretrasında doğal olarak yer alan bakteri topluluklarının bakteriyel vaginosis ile bir ilişkisinin olup olmadığı aydınlatılmaya çalışılacaktır.
Çalışmaya alınmadan önce idrar örneğinizin Gram boyama ve kültür ekimi gerçekleştirilecektir. Herhangi bir üriner sistem infeksiyonu bulgusu belirlendiğinde vereceğiniz telefon numarası ile size ulaşılacak ve tarafımızdan bilgilendirileceksiniz. Böyle bir durum söz konusu olduğunda sizden alınan örnek çalışma dışında tutulacaktır.
Çalışmanın her aşamasında çalışmayı terk etme hakkınız bulunmaktadır.
İdrar verme işlemi tarafınızdan gerçekleştirilecek olup her hangi bir tıbbi yan etki ve sağlık riski taşımamaktadır.

Örnek verilirken dikkat edilmesi gereken hususlar:

İdrar çıkış bölgesi sabunlu su veya dezenfektanlı pamuk ile temizlenmelidir.
Steril idrar kabı en son açılmalı ve kabın iç taraflarına kesinlikle dokunulmamalıdır.
İlk akım idrarı en az 20 ml olacak şekilde kabın içine alınmalıdır.
Örnek yarım saat içinde tarafımıza ulaştırılmalıdır. Gecikme durumunda idrar örneği buzdolabında saklanmalı ve buz aküsüyle taşınmalıdır.

EK. A-2: Onam Formu

Gönüllünün onam açıklaması:

Doktorum bana işlem ile ilgili gerekli açıklamaları yaptı.İşlemden önce ve sonra dikkat etmem gereken hususları anladım.

İşlemde elde edilen benimle ilgili tüm verilerin eğitim amaçlı kullanılabileceği açıklandı.

Doktorum tüm sorularımı anlayabileceğim bir biçimde yanıtladı.

İşlemimi uygulayacak kişiler hakkında bilgi edindim.

Aklım başımda ve kendimi karar verecek yeterlilikte görüyorum.

İstemediğim taktirde işleme onam vermek zorunda olmadığımı ve/veya istediğim aşamada işlemi durdurabileceğimi biliyorum.

Tarih/Saat

Ad, soyad, İmza

EK. B: Anket Formu

Cinsiyet:

Yaş:

Meslek:

Medeni durum:

*Evli * Bekar

Sünnet durumu:

*Evet *Hayır

Sigara kullanıyor musunuz?

*Hayır *Günde 1 paketten az *Günde 1 paketten fazla

Hayat boyunca cinsel ilişki deneyiminiz oldu mu?

*Evet *Hayır

Size ulaşabileceğimiz bir telefon numarası:

Son 2 hafta içinde aşağıdaki şikayetlerden herhangi varsa lütfen işaretleyiniz:

a) Ateş
b) Sık sık ve azar azar idrar yapma
c) İdrar yaparken ağrı, yanma, rahatsızlık hissi
d) Kasık ağrısı
e) Kötü kokulu idrar
f) Bulanık idrar
g) Kanlı idrar
h) Böğür ağrısı

Son 1 ay içinde antibiyotik kullandınız mı?

*Evet *Hayır

Herhangi bir üriner sistem hastalığınız var mı?

*Evet *Hayır

Hekimin bilgilendirme konuşmasına ait notları:……...

EK. C: Etik Kurul Raporu

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI

GİRİŞİMSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
KARARLARI

Toplantı Sayısı: 12	**Toplantı Tarihi : 03.09.2013**

Karar Sayısı 2013/277 S.Ü. Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof.Dr. Emine İnci TUNCER'in, "Erkek Üretrasında Bakteriyel Vaginosis ile İlişkili Bakterilerin Tanımlanması" başlıklı araştırmasının değerlendirilme talebi ile ilgili 22.08.2013 tarihli dilekçesi ve ekleri görüşüldü.

Yapılan inceleme ve görüşmelerden sonra; Prof.Dr. Emine İnci TUNCER'in, "Erkek Üretrasında Bakteriyel Vaginosis ile İlişkili Bakterilerin Tanımlanması" adlı araştırmanın kabulüne, TÜBİTAK veya BAP desteği alındıktan sonra protokolün dosyaya ilave edilmek üzere Etik Kurul sekretaryasına teslim edilmesine oy birliği ile karar verildi.

ASLI GİBİDİR
03/09/2013

Mahmut KESİK
Sekreterya

ÖZGEÇMİŞ

Ayşe Rüveyda Uğur 1977 yılında Kahramanmaraş'ta doğdu. Kahramanmaraş Atatürk İlkokulu'nda başladığı ilk öğrenimini Almanya, Central Volk Schule'de 1984-1989 yıllarında; orta ve lise eğitimini Osmaniye İmam Hatip Lisesi'nde 1989-1995 yıllarında; tıp eğitimini Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi ve Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde 1996 -2009 yıllarında tamamladı. 2009-2011 yılları arasında Sarayönü Devlet Hastanesi'nde pratisyen hekimlik yaptı. Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Bölümü'nde 2011'de Arş. Gör. Dr. olarak çalışmaya başladı. Ayşe Rüveyda Uğur evli ve bir çocuk annesidir.