ÇANKIRI KARATEKİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TÜP BEBEK SÜRECİNDE KADINLARDA VAJİNAL ENFEKSİYON VE DOĞURGANLIKTAN İZOLE EDİLEN VİRÜLANS GENLERİNİN MOLEKÜLER OLARAK SAPTANMASI

Jihan Hussein Ahmed AHMED

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ÇANKIRI
2022

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

Jihan Hussein Ahmed AHMED tarafından hazırlanan **"Tüp Bebek Sürecinde Kadınlarda Vajinal Enfeksiyon ve Doğurganlıktan İzole Edilen Virülans Genlerinin Moleküler Olarak Saptanması"** adlı tez çalışması 17/01/2023 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği/oy çokluğu ile Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Prof. Dr. Seçil AKILLI ŞİMŞEK

Eş Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Anas Y. AL-HAYAWI

Jüri Üyeleri :

Başkan : Prof. Dr. İsim SOYİSİM
Biyoloji Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Üye : Doç. Dr. İsim SOYİSİM
Biyoloji Anabilim Dalı
Yıldız Teknik Üniversitesi

Üye : Dr. Öğr. Üyesi İsim SOYİSİM
Biyoloji Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. İbrahim ÇİFTÇİ

Enstitü Müdürü

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğine göre hazırlamış olduğum "**Tüp Bebek Sürecinde Kadınlarda Vajinal Enfeksiyon ve Doğurganlıktan İzole Edilen Virülans Genlerinin Moleküler Olarak Saptanması**" konulu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı, tezin içerdiği yenilik ve sonuçları başka bir yerden almadığımı, tezde kullandığım eserleri usulüne göre kaynak olarak gösterdiğimi, tezin Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nden başka bir bilim kuruluna akademik amaç ve unvan almak amacıyla vermediğimi ve bu çalışmanın Çankırı Karatekin Üniversitesi tarafından kullanılan "Bilimsel İntihal Tespit Programı"yla tarandığını, "intihal içermediğini" beyan ederim. Çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması halinde ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara razı olduğumu bildiririm. Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca gereğinin yapılmasını arz ederim (17/01/2023).

Jihan Hussein Ahmed AHMED

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

TÜP BEBEK SÜRECİNDE KADINLARDA VAJİNAL ENFEKSİYON VE DOĞURGANLIKTAN İZOLE EDİLEN VİRÜLANS GENLERİNİN MOLEKÜLER OLARAK SAPTANMASI

Jihan Hussein Ahmed AHMED

Çankırı Karatekin Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Seçil AKILLI ŞİMŞEK
Eş Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Anas Y. AL-HAYAWI

Son zamanlarda, çiftlerde kısırlık ve gecikmiş gebelik vakalarında önemli bir artış olmuştur. Bu nedenle, bu tür sorunları çözmek için yapay üreme tekniğine başvurmak gerekmektedir. Yapay üreme tekniği, kısır çiftlerde gebeliğin oluşmasında başarı elde ederken, sürecin başarısına yardımcı olan tüm koşulların mevcudiyetine rağmen (yaş, sperm kalitesi, yumurta kalitesi, implante edilen embriyoların sayısı ve kalitesi, sağlıklı endometrium) hamileliğe ulaşamayan girişimlerde yaşanmaktadır. Bu çalışma ile tüp bebek girişimlerinde gebelik oluşma olasılığını önleyen veya azaltan nedenleri araştırdık, üzerinde durduğumuz en önemli sebeplerden biri, bakteriyel vajinoza neden olan bakterilerin virülans genlerinin saptanması ve tüp bebek uygulanan kadınlarda gebelik sonucuna etkisinin araştırılması olmuştur. BV, normal vajinal floranın bozulması nedeniyle oluşmaktadır. Bu da kötü kokulu vajinal akıntıya, bazen kaşıntıya ve pH seviyesinde dengesizliğe, dolayısıyla doğal yolla çocuk sahibi olamamaya yol açmaktadır. Çalışmamız doğrultusunda, bakteriyel vajinal enfeksiyonlardan muzdarip vakaları takip ederek BV virülans genlerinin ve bakteriyel vajinozun tüp bebek girişimlerinin başarılı olması konusunda önemli bir rol oynadığı tespit edilmiştir; bir grubun tüp bebek tedavisi ile gebelik elde ettiği, diğer grubun başarısız olduğu belirlenmiştir. Ayrıca tekrarlayan düşük, erken doğum ve cenin ölümü üzerinde de etkisi olduğu saptanmıştır.

2022, 51 sayfa

ANAHTAR KELİMELER: IVF, Virülans gen, Vajinal enfeksiyon, Doğurganlık

ABSTRACT

Master of Science Thesis

MOLECULAR DETECTION OF VIRULENCE GENES ISOLATED FROM VAGAINAL INFECTION AND FERTILITY IN WOMEN DURING THE IVF PROCESS

Jihan Hussein Ahmed AHMED

Çankırı Karatekin University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Advisor: Prof. Dr. Seçil AKILLI ŞİMŞEK
Co-Advisor: Asst. Prof. Dr. Anas Y. AL-HAYAWI

Recently, there has been a significant increase in cases of infertility and delayed pregnancy in couples. Therefore, it was necessary to resort to the technique of artificial reproduction to solve such problems. The artificial reproduction technique has achieved success in the occurrence of pregnancy in infertile couples, while there are other attempts that failed to achieve pregnancy despite the availability of all conditions that help in the success of the process (age, quality of sperm, quality of eggs, number and quality of implanted embryos, healthy endometrium). Through this study, we searched for the reasons that prevent or reduce the chances of pregnancy occurring for IVF attempts, one of the factors that we focused on was the detection of the virulence genes of the bacteria that cause bacterial vaginosis and its effect on the outcome of pregnancy for women undergoing IVF. BV occurs because of a disturbance in the normal vaginal flora. This leads to a foul-smelling vaginal discharge, sometimes itching, and an imbalance in the pH level, consequently, the inability to have children naturally. By following up on cases that suffer from bacterial vaginal infections We found that BV virulence genes and bacterial vaginosis play an important role in the outcome of IVF success; it was found that one group achieved pregnancy with IVF treatment and the other group failed. It also has an effect on recurrent miscarriage, premature birth, and fetal death.

2022, 51 pages

Keywords: IVF, Virulence gene, Vagainal infection, Fertility

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Hayatımdaki tüm zorluklara benimle göğüs geren, hayatımın her aşamasında bana destek olan, yakın ilgi ve önerileriyle her aşamada bana rehberlik eden en değerlilerim canım aileme teşekkür ederim.

Çalışmalarımda her türlü yardımdan kaçınmayan, beni her zaman destekleyen, büyük bir anlayış gösteren ve bana yol gösteren değerli hocalarım Prof. Dr. Seçil AKILLI ŞİMŞEK ve Dr. Öğr. Üyesi Anas Y. AL-HAYAWI'ye 'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Jihan Hussein Ahmed AHMED

Çankırı, Haziran 2022

İÇİNDEKİLER

ÖZET ..... **i**
ABSTRACT ..... **ii**
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR ..... **iii**
İÇİNDEKİLER ..... **iv**
SİMGELER DİZİNİ ..... **vi**
KISALTMALAR DİZİNİ ..... **vii**
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **viii**
ÇİZELGELER DİZİNİ ..... **ix**
1. GİRİŞ **1**
2. LİTERATÜR ÖZETİ **3**
2.1 Tüp Bebek **3**
2.1.1 Yumurtalık stimülasyonunun kontrol altına alınması **3**
2.1.2 Oosit toplama **5**
2.1.3 Oosit denüdasyonu **6**
2.1.4 Sitoplazma içi sperm enjeksiyonu (ICSI) **7**
2.1.5 Embriyo bölünmesi **8**
2.1.6 Blastosist ve embriyo transferi **10**
2.1.7 Riskler **11**
2.1.8 Hamilelik testi **12**
2.2 Kısırlık **13**
2.2.1 Erkek kısırlığı **14**
2.2.2 Kadın kısırlığı **15**
2.3 Bakteriyel Vajinoz (BV) **17**
2.3.1 Bakteriyel vajinozun tanımı **17**
2.3.2 Klinik bulgular **19**
2.3.3 Risk **20**
2.3.4 Teşhis **21**
2.3.5 Önleme ve tedavi **22**
2.4 Kısırlık ve Bakteriyel Vajinoz **23**
2.5 Virülans Genleri **24**

3. MATERYAL VE METOT 25
3.1 Materyal 25
3.1.1 Cihaz ve ekipman 25
3.2 Yöntem 26
3.2.1 Örnek koleksiyon 27
3.2.2 Prosedür 27
4. BULGULAR VE TARTIŞMA 31
4.1 Yaş Kategorileri 31
4.2 Hastaların Kan Grupları 31
4.3 Numune Tanımlama Sonuçları 32
4.4 Virülans Genlerinin Moleküler Tanı (PCR) Sonuçları 35
4.4.1 *Escherichia coli*'nin PapC geni 36
4.4.2 *Streptococcus agalactiae*'nin Lmb geni 36
4.4.3 *Klebsiella pneumonia*'da Kfu geni 37
4.5 Virülans Genleri ve Hamilelik Sonuçları 37
4.6 Embriyo Transferi ve Kalitesi 38
4.7 Düşük ve Bakteriyel Vajinozis 39
4.8 Polikistik Over Sendromu ve Yaş 40
4.10 Bakteriyel Vajinoz ve Gebelik Sonuçları 41
5. SONUÇ VE ÖNERİLER 43
KAYNAKLAR 45
ÖZGEÇMİŞ 51

SİMGELER DİZİNİ

%	Yüzde
°C	Santigrat derece
mL	Mililitre
nm	Nanometre
µg	Mikrogram
µL	Mikrolitre

KISALTMALAR DİZİNİ

AMH	Anti-müllerian hormon değeri
ART	Yardımcı üreme teknolojisi
BV	Bakteriyel vajinoz
GnRH	Gonadotropin salgılatıcı hormon
GnRHa	GnRH agonisti
GnRHant	GnRH antagonisti
HCG	İnsan koryonik gonadotropin
ICSI	Sitoplazma içi sperm enjeksiyonu
IVF	Tüp bebek
LH	Lüteinize edici hormon
PCOS	Polikistik over sendromu

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Foliküllerin ultrasonu (Choe *et al.* 2020) 6
Şekil 2.2 Olgun bir oositin soyulma dizileri (a) Denüdasyondan önceki kümülüs-korona oosit kompleksi (b) Korona hücreleriyle çevrili hiyalüronidaz ile muamele edilmiş oosit (c) Mekanik soyma işleminden sonra soyulmuş bir oosit (Mahadevan and Trounson 1985). 7
Şekil 2.3 ICSI süreci (Dumoulin *et al.* 2001). 8
Şekil 2.4 Embriyo gelişim aşamaları (Raudonis *et al.* 2019) 9
Şekil 2.5 Erkek kısırlığı faktörleri (Thonneau *et al.* 1991). 14
Şekil 2.6 Vajinal kanal içinde bakteri varlığı (Obata-Yasuoka *et al.* 2002). 18
Şekil 3.1 Phoenix m50 25
Şekil 3.2 Phoenix m50 için gerekli olan malzemeler ve kullanılan diğer cihazlar ve araçlar 26
Şekil 4.1 UV ışığı altında PapC gen elektroforezi 36
Şekil 4.2 UV ışığı altında Lmb gen elektroforezi 36
Şekil 4.3 UV ışığı altında Kfu gen elektroforezi 37

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1 Gen primeri 28
Çizelge 3.2 Kfu geninin primeri için gerekli koşullar 29
Çizelge 3.3 Papc geni ve Lmb geninin primeri için gerekli koşullar 30
Çizelge 4.1 IVF hastalarını yaşı 31
Çizelge 4.2 IVF hastalarının kan grupları ve yaşı 31
Çizelge 4.3 Vakaların enfeksiyon sayıları 32
Çizelge 4.4 Bakteriyel ve fungal enfeksiyon bulaşan vaka sayısı 33
Çizelge 4.5 Vajinadaki bakteri türleri 33
Çizelge 4.6 Bakteri türlerinde belirlene virülans genleri 35
Çizelge 4.7 Virülans genlerine sahip bakteri ile enfekte kişilerde gebelik sonuçları ... 37
Çizelge 4.8 Hastanın yaşı ve implante edilen embriyo sayısı 39
Çizelge 4.9 Düşük ile bakteriyel vajinoz arasındaki ilişki 40
Çizelge 4.11 Hastaların yaşlarına göre Anti Mullerian Hormon (AMH) düzeyleri 41
Çizelge 4.12 Bakteriyel vajinozun gebelik üzerine etkisi 42

1. GİRİŞ

Yardımcı üreme teknolojisi (ART), genellikle in vitro fertilizasyon (IVF) olmak üzere oositlerin vücut dışında manipüle edilmesini içeren teknikleri ifade etmektedir. IVF, endometriozis ve açıklanamayan kısırlık dahil olmak üzere birçok kısırlık sorununu tedavi etmek için yaygın olarak kullanılan yöntemdir (Choe *et al.* 2020). Genellikle implantasyonunun sonucu üzerinde etkisi olan vajinal patojenlere neden olan bakteriler de dahil olmak üzere çeşitli klinik ve biyolojik değişkenlerden etkilenir. Şimdiye kadar, IVF'de bakteriyel vajinanın gebelik oranı üzerindeki etkisini araştıran sadece üç çalışma bulunmaktadır (Mangot-Bertrand *et al.* 2013).

Bakteriyel vajinoz (BV), 18 ile 40 yaş arasındaki kadınların yaklaşık %30'unu etkileyen yaygın bir vajinal enfeksiyondur (Jones 2019). BV; insanlada immün sistem zayıflık virüsü olan HIV, herpes simpleks ve gonore gibi cinsel yolla bulaşan enfeksiyonların (CYBE) bulaşma riskinin artmasıyla ilişkilidir. Bu nedenle erken doğum başta olmak üzere, pelvik inflamatuar hastalıklara ve doğum sonrası histerektomide rol açabilir. Ancak uygulanan mevcut tedavi yöntemleri bakteriyel vajinozun yayılmasını azaltmamıştır (Jones 2019).

IVF hastalarının endometriyal mikrobiyomu üzerine yapılan son araştırmalar, bir *Lactobacillus* türünün endometriyal mikrobiyotayı azalttığını ve büyük ölçüde kötü üreme sonuçlarıyla ilişkili olduğunu ortaya koymuştur (Haahr *et al.* 2017).

Bakteriyel vajinoz, laktobasil türlerinin H_2O_2 üretiminin yokluğunda, Gram değiştiren basillerde, anaerobik organizmalarda ve mikoplazma genitaliumda artışla birlikte normal vajinal floradaki rahatsızlığın bir sonucu olarak ortaya çıkabilir. BV gelişiminde spesifik bir etiyolojik ajanın olmaması durumunda tedaviyi takiben hastalığın nüksetmesinin ana nedeni cinsel ilişkinin rolü olarak açıklanabilir. Yakın zamanda cinsel partner değişikliği, artan sayıda cinsel partner, erken cinsel ilişki öyküsü, önceden CYBE öyküsü, düzensiz prezervatif kullanımı, sağlık hizmeti almadaki zorluklar ve genç yaş bunların hepsi mevcut CYBE'lerle bağlantılı risk faktörleri olarak sıralanmaktadır (Fethers *et al.* 2008).

Hem erkek hem de kadın hastalarda, cinsel sistemdeki bakteriyel bir enfeksiyon, kısırlığın en yaygın nedenlerinden biri olarak bilinmektedir (Shi *et al.* 2016). Tüp bebek uygulamalarında, embriyo kateter uçlarının *Streptococcus viridans* ve yumurta toplama gününde iyot povidon ile kaplanması gebelik oranını önemli ölçüde azaltmaktadır. BV, gebe kadınların %6-63,7'sinde bulunur ve obstetrik komplikasyonlarda iki kat artışın nedeni olduğu düşünülmektedir. Genellikle erken düşük vakalarında yüksek morbidite riski bulunmaktadır (Mangot-Bertrand *et al.* 2013).

2013 yılından itibaren moleküler temelli BV tanısı kullanan çalışmalar da dahil olmak birçok araştırma yayınlanmıştır Ayrıca, meta-analiz üreme sonucunu belirlemek için yapılan çalışmalarda döngü başına yapılacak embriyo transferi yeterince açıklanmamıştır. Hatta bazı çalışmalar BV pozitif için antibiyotik kullanımını değerlendirmemiştir (Mangot-Bertrand *et al.* 2013).

Bakteriyel vajinoz, vajinal bölgede tipik bir bakteri florası dengesizliğidir, yaygın olarak balık benzeri bir koku ile artan vajinal akıntı ile kendini gösterir. Akıntının kendisi tipik olarak ince, gri veya beyaz renktedir (Kairys and Garg, 2022). Gebeliğin erken döneminde tespit edildiğinde; geç düşük insidansında artış, membranların erken yırtılması, endometrit ve erken doğum gibi istenmeyen semptomlar bildirilmiştir. Yaygın olarak bakteriyel vajinoz ile ilişkili bir patojen olan *Gardnerella vaginalis*, düzensiz rahim kanaması ve histolojik endometrite neden olmaktadır (Liversedge *et al.* 1999). Bunun sonucunda oluşan patogenez, *Gardnerella vaginalis*'in embriyonun implantasyonunu olumsuz yönde etkilemesi ve biyofilm oluşturmak için vajinadan endometriuma yükselmesi olarak açıklanabilir (Haahr *et al.* 2017).

Bazen tüp bebek uygulamasından sonra birçok nedenden dolayı (Kadın yaşı, Embriyo sayısı, embriyo derecesi, rahim sorunları, obezite) gebelik başarısızlığı vakaları olabilir:. Bu nedenle çalışma kapsamında vajinal enfeksiyonları ve sonuçlara etkilerini incelemek ve tüp bebek işlemlerinde gebeliğin başarısız olmasının nedenlerini ortaya koymak amaçlanmıştır. Vajinal enfeksiyona neden olan bakterilerin virülans genlerinin genetik teşhisinin yanı sıra gebelik oluşumuna da olumsuz etkileri araştırılmıştır.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1 Tüp Bebek

Yardımcı üreme teknolojisi (ART), en sık in vitro fertilizasyon (IVF) olmak üzere oositlerin vücut dışında manipüle edilmesini içeren teknikleri ifade etmektedir. Yumurtalar in vivo olarak yumurtalıkta olgunlaştığı ve embriyolar rahimde hamileliğe dönüştüğü için, "in Vitro" tabiri canlı bir vücudun dışında döllenmeyi ifade eder. Tüp bebek yoluyla ilk canlı doğum Temmuz 1978'de İngiltere'de Robert Edwards ve Patrick Steptoe tarafından duyurulmuştur. Bunu takiben Dr. Edwards, bu keşif için 2010 yılında Nobel Tıp Ödülü'ne layık görülmüştür (Choe *et al.* 2020)

Üreme endokrinolojisi infertilitesi (REI) disiplini, infertilite tedavisinin keşfi ile hızla ilerlemiştir. IVF şu anda Amerika Birleşik Devletleri ve Avrupa'daki tüm canlı doğumların %1,6- 4,5'ini oluşturmaktadır. IVF ilk olarak geri dönüşümsüz tubal hastalığı tedavi etmek için kullanılmıştır, ancak şimdi endometriozis, malefaktör ve açıklanamayan infertilite gibi bir dizi faktörün neden olduğu infertiliteyi tedavi etmek için yaygın olarak kullanılmaktadır. Primer yumurtalık yetmezliği (POI) veya yaşlandıkça oosit miktarındaki düşüş nedeniyle oositlerini kullanamayan kadınlar artık donör oosit IVF ile hamile kalabilmektedir (De Moura *et al.* 2017).

ART operasyonlarını sınıflandırmak için yumurtanın kaynağı (hasta veya donör) ve yumurtaların ve embriyoların durumu kullanılmaktadır. Hastanın veya donörün taze veya donmuş yumurtalarından taze ve çözülmüş embriyolar oluşturulabilir. Bir ART döngüsü, tıbbi nedenlerle veya hastanın talebi üzerine herhangi bir noktada durdurulabilir (Sunderam *et al.* 2018).

2.1.1 Yumurtalık stimülasyonunun kontrol altına alınması

Yumurtalık stimülasyonu, IVF sürecindeki ilk adımdır. Klomifen sitrat, letrozol ve eksojen gonadotropinler (FSH ve LH) kullanılarak stimülasyon yapılmamasından çeşitli

miktarlarda yumurtalık stimülasyonuna kadar değişen protokoller kullanılır. Gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) analogları, kadının LH artışını bastırmak için IVF döngülerinde kullanılır ve doktorların yumurta toplama planlamasına izin verir. Foliküler gelişimi izlemek için transvajinal ultrasonografi kullanılır ve kandaki E2 seviyeleri, stimülasyon stratejisinin ayarlanması gerekip gerekmediğini değerlendirmeye yardımcı olur (Neyens *et al*. 2016).

Yumurtalık, LH ve FSH tarafından bağımsız olarak uyarılan ve yumurtalık steroidlerinin üretimine yol açan iki hücresel bileşen içerir. Kolesterolden androjen üretimi ve folikülogenez sırasında salınması, teka hücrelerinin LH ve FSH tarafından uyarılmasına bağlıdır. Oosit, IVF'de döngü ortasında LH artışı meydana gelmeden önce toplanır veya LH salınımını bloke etmek için bir GnRH antagonisti (GnRH ant) kullanılır (Choe *et al.* 2020). HCG, kurşun folikül olgunluğa ulaştığında LH artışını değiştirmek için kullanılır. Gebelik oranı her döngüde yaklaşık %8'dir, üç döngüden sonra kümülatif oran %21 ve erkek faktörlü kısırlığa sahip çiftlerde oranlar %44'e kadar çıkmaktadır. Klinik gebelik oranının azalması nedeniyle doğal siklus IVF rutin olarak kullanılmamaktadır (Pelinck *et al*. 2007).

IVF döngülerinin büyük çoğunluğu, 10 ile 20 oositin alınmasıyla sonuçlanan yumurtalık uyarımı içerir. Uzun bir luteal GnRH agonisti (GnRH a) veya GnRH antagonisti (GnRH ant) döngüsü iki ana tedavi şeklidir*(*Dumoulin *et al.* 2001).

Uzatılmış luteal GnRH tedavisi, önceki ayın 21. gününden başlayarak günlük 0,1 mg GnRH dozu ile başlar. Yumurtalık uyarımı sırasında, LH'nin (ve FSH'nin) hipofiz salınımı kapatılırken, GnRHant HCG enjeksiyonuna kadar sürdürülür. Gonadotropinler, günlük 75 ile 450 IU arasında değişen dozlarda, foliküler gelişime ve östradiol seviyelerine göre doz değişiklikleriyle, 2. döngü gününden başlayarak enjekte edilir. En az üç folikül 18 mm büyüklüğe ulaştığında, HCG enjeksiyonu yapılır *(*Ziebe *et al.* 1997). Başarı oranları, Lupron aşağı regülasyonu yerine bir antagonist rejimi kullanılıyorsa, daha az enjeksiyonla ve yumurtalık hiperstimülasyon sendromu riskinin azalmasıyla aynıdır. FSH ilacı normalde adetin ilk iki ile yedi günü içinde başlar. FSH ürünü uygulandığında leuprolide asetat dozajı tipik olarak azaltılır. FSH ürününün dozu ve markası (örn.

Follistim, Gonal-F, Menopur) hekimin tercihlerine ve hastanın durumuna göre belirlenir (Ubaldi *et al.* 2019*).*

Minimum stimülasyon rejiminde, seçici bir östrojen reseptör modülatörü (SERM) olan klomifen sitrat veya bir aromataz inhibitörü olan letrozol, gonadotropinli veya gonadotropinsiz kullanılır. Gonadotropin uyarımı en aza indirildiğinde veya ortadan kaldırıldığında çiftin maliyeti azalır. Canlı doğum oranı, uzatılmış GnRH A tedavisine kıyasla biraz daha düşük olsa da (%49'a karşı %63), çalışmalar, minimum stimülasyon stratejisi ile over hiperstimülasyon sendromu ve çoğul gebelik insidansının çok daha düşük olduğunu ortaya koymuştur (Choe *et al.* 2020). Son yıllarda yumurtalık hiperstimülasyon sendromu tehlikesini azaltmak veya ortadan kaldırmak için bir Lupron tetikleyici kullanılmaktadır.

Amerika Birleşik Devletleri'nde IVF stimülasyon prosedürlerinde genellikle üç tür ilaç kullanılmaktadır;

1. Gelişmekte olan yumurtalar hazır olana kadar yumurtlamayı ve LH artışını önleyen bir ilaç. Bunun için kullanılan iki tür ilaç vardır.
   - Lupron (GnRH agonistidir)
   - Ganirelix veya Cetrotide (GnRH antagonistleridir) (Wang *et al.* 2021).
2. Çoklu yumurta oluşumunu destekleyen FSH (folikül uyarıcı hormon) ürünü.
   - Menopur, Gonal-F, Follistim, Bravelle (Mahadevan *et al.* 1999).
3. HCG (insan koryonik gonadotropin), oosit nihai olgunlaşmasını tetiklemek için kullanılır. Yumurtalıklar, çok sayıda olgun büyüklükte folikül ortaya çıkana kadar enjekte edilebilir. FSH ilaçları ile yaklaşık 7-12 gün boyunca uyarılır (Neyens *et al.* 2016).

2.1.2 Oosit toplama

In vitro fertilizasyon (IVF) ve intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) döngüleri, transvajinal oosit alımını içermektedir. Düzenlenmiş yumurtalık stimülasyonundan sonra

amaç, gelişmiş oosit-kümülüs komplekslerine ulaşmaktır. Bazen, her >14 mm folikülden yetersiz sayıda oosit çıkarılır (Wang *et al.* 2021). Foliküler yıkamadan sonra geri kazanılan oosit sayısı artar (Neyens *et al.* 2016). Endometriozis, güvenilir bir şekilde oosit toplama zorluklarının tek nedeni olarak bilinmektedir (Benaglia *et al.* 2018). Zayıf oosit toplama sayılarına sahip hastalar (yani toplanan nihai oosit sayısı >14 mm folikül sayısından az olan) tüm IVF/ICSI döngülerinin %12,18'ini oluşturmaktadır (Wang *et al.* 2021). Oosit orijinal foliküler sıvıdan elde edilemezse foliküler kavite iki ile dört defa yıkanmalıdır (Benaglia *et al.* 2018) (Şekil 2.1).

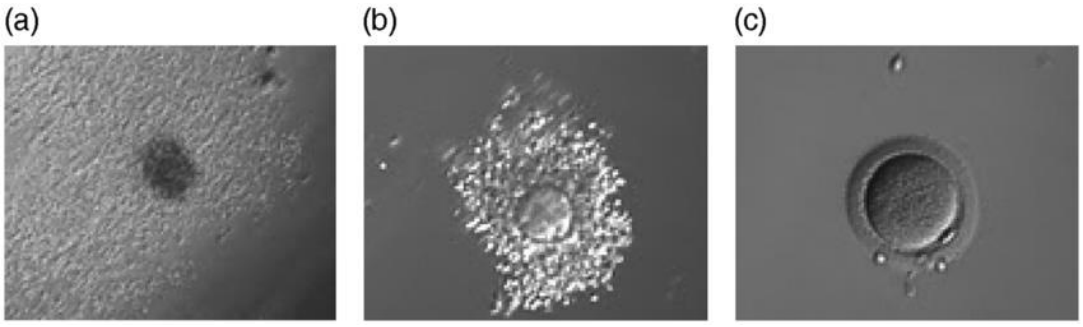


Şekil 2.1 Foliküllerin ultrasonu (Choe *et al.* 2020)

2.1.3 Oosit denüdasyonu

Oosit denüdasyonu, biri mekanik diğeri enzimatik olmak üzere iki eylemi içerdiğinden, embriyolog tarafından çok büyük dikkat ve beceri gerektiren kritik bir prosedürdür. Bu oosit temizleme prosedürünün öenmli olma nedeni intrasitoplazmik granülasyondur yani polar cisim parçalanması ve artan perivitellin boşluk gibi morfolojik değişikliklerin görünürlüğünü sağlanarak fertilizasyon için daha canlı oositlerin seçilmesi gerekmektedir (Choe *et al.* 2020). Hyalüronidaz enzimi, yumurtaları soymak için kullanılır. Kümülüs hücreleri, hücreler arasında hyaluronik asidi sindirerek yok eder (Mahadevan and Trounson 1985).

Birçok çalışmada kullanılan konsantrasyon 80 IU/mL'dir (Joris *et al.* 1998). Daha büyük boyutlu bir pipet ve daha düşük bir hiyalüronidaz dozu kullanarak, oositin enzime maruz kalma süresi verimli bir şekilde azaltılabilir. Hiyalüronidaz, hücreleri kümülüsten yapay olarak ayırdığından, potansiyel olarak oosite çeşitli şekillerde zarar verebilir. Kümülüs hücrelerinin çıkarılması için kısa süreli maruz bırakma prosedürünün uygulanması kritik öneme sahiptir (De Moura *et al.* 2017, Ebner *et al.* 2006) (Şekil 2.2).



Şekil 2.2 Olgun bir oositin soyulma dizileri (a) Denüdasyondan önceki kümülüs-korona oosit kompleksi (b) Korona hücreleriyle çevrili hiyalüronidaz ile muamele edilmiş oosit (c) Mekanik soyma işleminden sonra soyulmuş bir oosit (Mahadevan and Trounson 1985).

2.1.4 Sitoplazma içi sperm enjeksiyonu (ICSI)

Tüp bebek laboratuvarında, erkek faktörü kısırlığını desteklemeyi amaçlayan sayısız tedavinin ilerlemesi, intrasitoplazmik sperm enjeksiyonunun (ICSI) oluşturulmasına yol açmıştır. ICSI süreci, zona pellusida ve oolemmayı atlayarak tek bir spermin doğrudan oosit sitoplazmasına bırakılmasını içermektedir (Simopoulou *et al.* 2016). ICSI, oosit için zor bir operasyondur ve tekniğin ayarları oositin fiziksel ve kimyasal stresini azaltmalıdır. ICSI'nin etkinliği çeşitli faktörlere bağlıdır ancak literatüre göre en önemlileri sperm hareketsizliği, oolemma kırılması ve sperm birikmesi olarak bilinmektedir. Kuyruğun presle mekanik olarak yırtılması, sperm immobilizasyonunun en yaygın yöntemidir.

Enjeksiyon sırasında ve PVP'nin kullanıldığı durumlarda oositin içsel veya dışsal olarak PVP'ye maruz bırakılmasından kaçınmak gerekmektedir. Sitoplazmanın enjeksiyon pipetine aspire edilmesinden sonra oosit zarının kırılması, etkili ICSI'nin çok önemli bir

faktörü olarak tanımlanmıştır. Bazı araştırmacılara göre, etkili ICSI için bu aşama gerekli değildir (Aboulghar *et al.* 1996).

Zar kırılmasının türü, döllenme hızı üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Zar kırılmadığında döllenme hızı daha düşük, ancak zar emme uygulamasından sonra yırtıldığında, döllenme oranı daha yüksek olarak gözlemlenmiştir. Ayrıca, kırığın hızlı bir şekilde kazanıldığı durumlarda artan dejenerasyon oranları artmaktadır (Dumoulin *et al.* 2001) (Şekil 2.3).



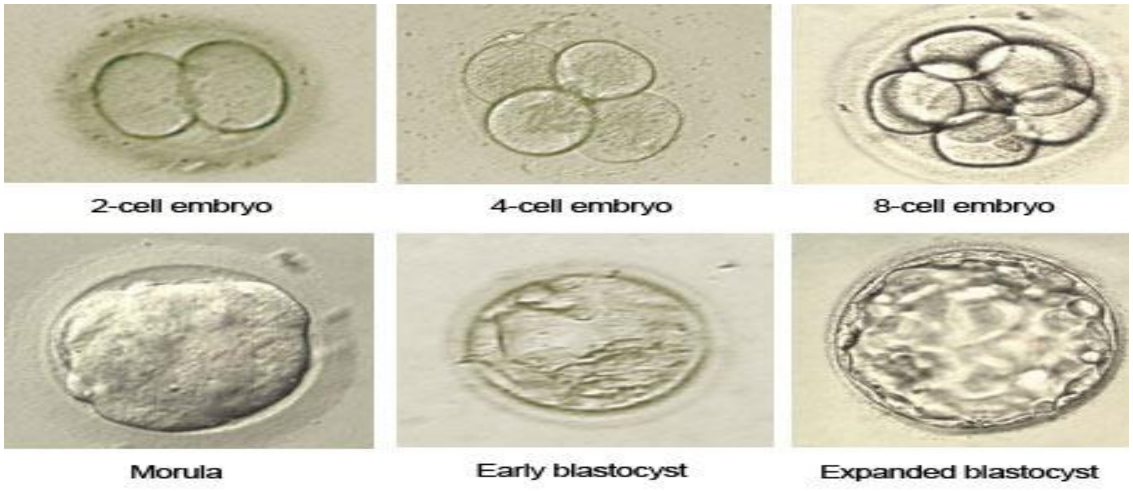
Şekil 2.3 ICSI süreci (Dumoulin *et al.* 2001).

2.1.5 Embriyo bölünmesi

2.1.5.1 Hücre sayısı

Embriyo sınıflandırma şemalarında, blastomerlerin sayısı, parçalanma derecesi, blastomerlerin simetrisi, çok çekirdekliliğin varlığı ve sıkıştırma durumu dikkate alınması gereken konulardır. Bölünme aşamasındaki embriyoların boyutları iki hücreden 8-16 hücreli sıkıştırılmış morulaya kadar değişir. En yüksek tahmin değerine sahip ana karakter, blastomer sayısıdır (Van Oostrum *et al.* 2013).

Gelişmekte olan embriyolarda hücre bölünmesi her 18-20 saatte bir gerçekleşir. Çok yavaş veya çok hızlı bölünen embriyolarda metabolik ve/veya kromozomal anormallikler olabilir. Her embriyo blastomerinin tek bir çekirdeği olmalıdır. 2. günde, zigot iki bölünmeden sonra 4 hücreli bir embriyo oluşturur. ZP tarafından verilen küresel boşlukta, embriyonun dört hücresi genellikle bir tetrahedron içinde düzenlenir. Hücreler arası sıkı bağlantıların yayılması nedeniyle embriyo 3. günde 8 hücreli aşamaya ulaştığında, blastomerler hücre-hücre yapışmasında bir artış sergilemeye başlar. Ayrıca sıkıştırma işlemi de burada başlar (Sparks 2000). 4. günde embriyo 16 hücreli bir embriyoya dönüşür ve 5. günde bir blastosiste dönüşür. Gelişim süreci, kültür ortamı ve sıcaklık gibi laboratuvardaki ortamlardan etkilenmektedir (Şekil 2.4).



Şekil 2.4 Embriyo gelişim aşamaları (Raudonis *et al.* 2019)

2.1.5.2 Parça

Hücre bölünmesi sırasında, küçük sitoplazma alanları bir hücre zarı ile çevrilidir ancak bu alanlarda DNA bulunmaz. Bu nedenle parçalanma, blastomer kökenli çekirdeksiz yapıların varlığı olarak tanımlanır (Keltz *et al.* 2006) ve hemen hemen her embriyo skorlama sistemi bir parçalanma ölçüsü içerir. Parçalanmayı ifade etmenin en yaygın yolu, toplam sitoplazmik hacmin yüzdesidir. Fragman sayısı, embriyoların implantasyon kapasitesini tahmin etmek için yaygın olarak kullanılır ve fragmantasyon anöploidi ile bağlantılıdır (Ebner *et al.* 2006). Toplam embriyo hacminin %10'unu geçmeyen

fragmantasyon embriyonun gelişim potansiyelini etkilememektedir. Zona pellusida (ZP) bölgesi içindeki parçaların boyutu ve dağılımı değişkendir (Alikani *et al.* 1999).

2.1.6 Blastosist ve embriyo transferi

Blastosist, farklılaşmaya yeni başlayan ve gebe kaldıktan sonra 5 ile 7 gün içinde gelişen bir embriyodur. İki hücre çeşidi ve ortasında bir oyuk vardır. Plasenta ve fetüs iki hücre grubundan oluşacaktır. Altıncı veya yedinci gün, sağlıklı bir blastosist dış kabuğundan çıkmaya başlar. Kabuktan çıktıktan kısa bir süre sonra annenin rahmine yerleşmeye başlamalıdır (Sunderam *et al*. 2002). Embriyo transferlerinin büyük kısmı, embriyoların "bölünme aşamasında", dört ile sekiz hücreye sahip oldukları 3. günde (yumurta ekstraksiyonundan sonra) yapılıyordu. Yumurtlamadan yaklaşık 80 saat sonra embriyo ilk kez rahme girer. Blastosist gelişimi ve kuluçkadansonra embriyo implantasyon süreci yaklaşık 3 gün sonra başlar (Van Oostrum *et al.* 2013). 3. günde transferle ilgili bir başka sorun da birçok embriyonun bu noktada büyümeye devam edememesi ve yüksek kaliteli blastosist haline gelmemesidir. Uzun vadede 3. gün embriyolarından hangisinin hayatta kalacağını belirlemenin imkânı yoktur. Sonuç olarak, hamilelik şansını artırmak için 3. günde daha fazla embriyo transfer edilmelidir.

Embriyolar 3. günden 5. güne kadar kültürlendiğinde, bazıları büyümeyi durdururken, diğerleri (tipik olarak %25 ile %60) blastokist olarak gelişmeye devam eder. Sonuç olarak, 5. günde transfer için en iyi blastokistleri seçmek, bebek yerleştirme ve doğurma olasılığı en yüksek olanları daha doğru bir şekilde seçmeye olanak tanır. Bazı programlar tüm IVF örnekleri için 5. gün aktarımlarını kullanır. Ancak, çiftlerin sadece küçük bir yüzdesinin 3. günde büyüyen embriyolara sahip olacağı, 5. günde tüm embriyolarının gelişmeyi bırakacağı endişesi bulunmaktadır (Ebner *et al.* 2006). Bu sebeple 3. günde 3 embriyodan daha az sayıda embriyoya sahip çiftler (37 yaşın altındaki kadınlar) için, IVF programı normalde 3. gün transferleri gerçekleştirmektedir. Bu drurum özellikle 5. günde transfer için embriyo bulunmayan nadir durumlarda başarılı bir yöntem olarak izlenmektedir. Bu kararın alınmasında, daha önce uygulanan IVF'lerden elde edilen bilgiler, kadın partnerin yaşı, rahim içine yerleştirilmesi beklenen embriyo sayısı (1, 2

veya 3) ve çiftin implantasyon öncesi genetik tarama isteyip istememesi gibi hususlar genellikle çok önemlidir (Neubourg *et al.* 2001).

2.1.7 Riskler

Birkaç çocuğa sahip olmak; IVF yoluyla rahminize birden fazla embriyo nakledilirse, birden fazla çocuk sahibi olma olasılığı daha yüksek olmaktadır. Aynı zamanda erken doğum ve düşük doğum ağırlığı, birden fazla fetüsün olduğu bir hamilelikte, tek bir fetüsün olduğu bir hamileliğe oranla daha olası bir durumdur. Bunlara ek olarak IVF, bebeğin erken veya düşük doğum ağırlıklı doğma olasılığını da arttırmaktadır (Işik *et al.* 2016).

İnsan koryonik gonadotropin (HCG) gibi yumurtlamayı uyarmak için enjekte edilebilir doğurganlık ilaçlarının kullanılması, yumurtalıkların büyümesine ve ağrılı olmasına neden olan yumurtalık hiperstimülasyon sendromuna neden olabilir. Bu durumda genellikle; hafif mide rahatsızlığı, şişkinlik, mide bulantısı, kusma ve bir hafta süren ishal yaygın görülen semptomlardır. Bununla birlikte, hamile kalma durumunda, belirtiler birkaç hafta daha sürebilir ve nadiren hızlı kilo alımı ve nefes darlığı ile sonuçlanan daha şiddetli bir over hiperstimülasyon sendromu tipi ortaya çıkabilir (Neubourg *et al*. 2001).

Tüp bebek yoluyla taze embriyolarla gebe kalan kadınların düşük oranları, doğal olarak gebe kalan kadınlarınkine benzerdir (yaklaşık %15 ile %25), ancak bu oran anne yaşıyla birlikte artmaktadır (Nugent *et al*. 1997).

Yumurta toplama prosedürünün komplikasyonları; yumurtaları almak için aspirasyon iğnesi kullanmak, kanamaya, enfeksiyona veya bağırsak, mesane veya kan damarında yaralanmaya neden olabilir (Mills *et al*. 2017).

Dış gebelik, IVF uygulanan kadınların yaklaşık %2 ile %5'inde döllenmiş bir yumurtanın rahim dışına, genellikle bir fallop tüpüne implante edilmesiyle oluşur. Döllenen yumurta rahim dışında yaşayamaz ve gebelik sonlandırılır (Liversedge *et al*. 1999).

Çocuklarda malformasyonların ortaya çıkmasında annenin nasıl gebe kaldığından ziyade annenin yaşı en büyük risk faktörüdür. IVF yoluyla gebe kalan çocukların belirli doğum anormalliklerine sahip olma olasılığının daha yüksek olup olmadığını görmek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır (Joris *et al*. 1998).

Yapılan araştırmalar, bazı yumurta büyüme uyarıcıları ile belirli bir yumurtalık tümörü formunun gelişimi arasında bir ilişki ortaya çıkarsa da günümüzde yapılan araştırmaların sonuçları bu bulgularla çelişmektedir. Tüp bebek uygulaması sonrasında meme, endometriyal, servikal veya yumurtalık kanseri vakalarında artış gözlenmemiştir (Mills *et al*. 2017).

2.1.8 Hamilelik testi

2.1.8.1 Beta insan koryonik gonadotropin testi (β-HCG)

Bir HCG gebelik testi, kan veya idrardaki insan koryonik gonadotropin (HCG) seviyelerini kontrol eder. Bu ölçüm, bir HCG testinin bir kişinin hamile olup olmadığını ve vücudunun doğru düzeyde hamilelik hormonları üretip üretmediğini belirleyebileceği anlamına gelir. Üç türü vardır (Sunderam *et al.* 2018):

Niteliksel HCG: Test sadece HCG'yi kontrol eder. Sonuç "evet" veya "hayır" olarak değerlendirilir.

Kantitatif HCG: Kandaki tam HCG miktarını ölçer. Çok düşük HCG seviyelerini bile bulabilir.

İdrar testleri (ev testleri): Uygulaması çok basit olan testlerdir. Gebelik sonuçları IVF'den iki hafta sonra görülebilir

2.1.8.2 Gebeliği etkileyen faktörler

Gebeliği etkileyen faktörleri aşağıdaki gibi sıralayabilir (Alikani *et al.* 1999);

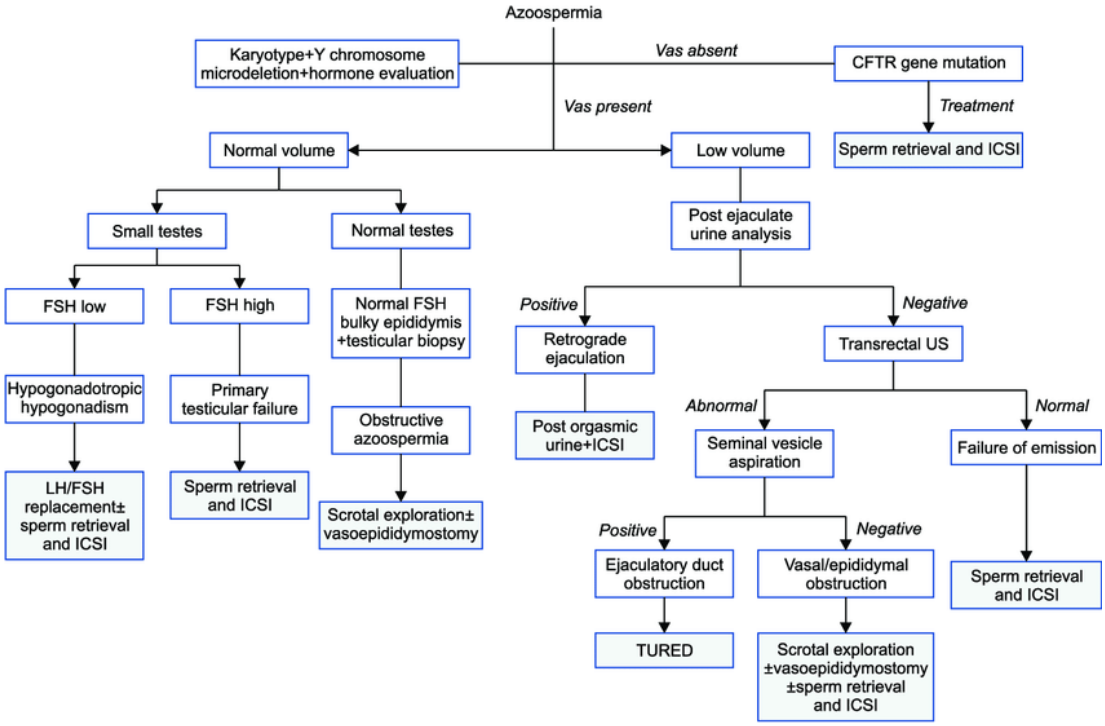
- Kadın partnerin yaşı
- Yumurta sayısı ve kalitesi
- Sperm kalitesi
- IVF'de yumurtalık stimülasyon kalitesi
- IVF laboratuvar standartları
- Yumurta toplama prosedürünün genel etkinliği ve uzman kişinin yumurta toplama yeteneği
- Tüp bebek doktorunun embriyo transferi uzmanlığının yanı sıra ultrason ekipmanı ve teknisyeni
- Toplanan toplam yumurta sayısı
- Kısırlığın nedeni
- Rahim sorunları
- Laboratuvar geliştirme sırasında embriyo büyümesi, embriyo kalitesi ve embriyonik tutuklama oranları
- Embriyoların genetik ve kromozomal yetkinliği
- Bakteriyel endometriozis gibi semptomlara yol açmayan ancak test ve röntgen ile tespit edilebilen ve gebelik kaybına yol açan enfeksiyonlar
- Endometrium kandaki progesteron hormonu seviyeleri (Alikani *et al.* 1999).

2.2 Kısırlık

Bir yıl boyunca korunmasız cinsel ilişkiye girdikten sonra hamile kalamayan çiftler kısır olarak kabul edilir (Thonneau *et al.* 1991).

2.2.1 Erkek kısırlığı

Erkek kısırlığı, kadın partnerin doğurgan olduğu bilindiğinde kısırlığı sınıflandırmak için kullanılır (Thonneau *et al.* 1991). Erkek infertilitesi genellikle spermatogenez ile ilgili problemlerden kaynaklanır. Bunun nedeni hormonal problemler (Şekil 2.5), testislerin zayıf işlevi (Klinefelter sendromu, Varikosel, Testis iltihabı veya yaralanması gibi genetik durumlar, Şiddetli hastalık, İnmemiş testisler, Genetikten dolayı anormal hormonal fonksiyon, enfeksiyon, kanserli tümör, Testosteron tedavisi, Anabolik steroid kötüye kullanımı, Opiat kullanımı, Obezite, Bazı ilaçlar) ve erkek ürogenital yolundaki tıkanıklıklar olarak sıralanabilir (Jungwirth *et al.* 2012).



Şekil 2.5 Erkek kısırlığı faktörleri (Thonneau *et al.* 1991).

Sperm fonksiyonunun bozulması; genetik faktörler, yaş ve klamidya veya diğer mikroplar gibi cinsel yolla bulaşan bakterilerin neden olabileceği ürogenital sistemde enfeksiyon veya iltihaplanmadan kaynaklanmaktadır (Glazer *et al.* 2017).

Erkeklerde kısırlık çeşitli nedenlerden kaynaklanabilir ve genellikle bir sperm analizi ile teşhis edilir. Bir uzman, bir semen analizi sırasında sperm miktarını (konsantrasyon), motiliteyi (hareket) ve morfolojiyi (şekil) değerlendirir. Abnormal bir sperm analizi, her zaman bir erkeğin kısır olduğu anlamına gelmez. Semen analizi ise erkek değişkenlerin kısırlığa nasıl katkıda bulunup bulunmadığını belirlemeye yardımcı olur (Glazer *et al.* 2017). Erkek kısırlığı, altta yatan nedene bağlı olarak tıbbi, cerrahi veya yardımcı üreme tedavileri ile tedavi edilebilir. Tıbbi ve cerrahi tedaviler genellikle kısırlık konusuuzmanlaşmış bir ürolog tarafından yönetilir. Bir üreme endokrinologu, erkek faktörü kısırlığının üstesinden gelmeye yardımcı olmak için intrauterin tohumlamalar (IUI'ler) veya in vitro fertilizasyon (IVF) uygulayabilir (Thonneau *et al.* 1991). Erkek kısırlığının tedavi şekli bunu yaratan sebebe bağlıdır. Örneğin, kısırlık kişinin yaşam tarzından kaynaklanıyorsa, doktor tarafından bu alışkanlıklardan vazgeçilmesi önerilir. Tıbbi bir durum için kullanılan ilaçlar kısırlığa neden oluyorsa alternatif tedaviler uygulanabilir (Jungwirth *et al.* 2012).

2.2.2 Kadın kısırlığı

Kadınların hamile kalmak için düzgün çalışan yumurtalıklara ihtiyacı vardır. Kadınlarda fallop tüpünde ve uterusta meydana gelen, herhangi bir sorun kısırlığa neden olur. Bu koşullardan bazıları aşağıda açıklanmıştır ve bunlar çeşitli testler kullanılarak değerlendirilebilir (Bradshaw *et al*. 2006).

Yumurtalık disfonksiyonu (yumurtlamanın varlığı veya yokluğu ile yumurtalık yaşının sonuçları), Bir kadının adet döngüsünün tipik uzunluğu 28 gündür. Tam akışın ilk günü 1. Gün olarak adlandırılır. Yumurtlama genellikle her 24 ile 32 günde bir meydana gelen düzenli öngörülebilir dönemlerle belirtilir. Adet düzensizliği olan bir kadında yumurtlama pek olası değildir (Roupa *et al.* 2009).

Yumurtlama, bir yumurtlama tahmin kiti kullanılarak tahmin edilebilir ve kadının progesteron düzeyini değerlendirmek için adet döngüsünün 21. gününde bir kan testi ile doğrulanabilir. Bir kadının yumurtalık fonksiyonunu değerlendirmek için çeşitli testler

olmasına rağmen, hiçbir test doğurganlığın %100 doğru bir göstergesi değildir (Castro *et al.* 2013).

Adet döngüsünün 3 ile 5. günlerinde folikül uyarıcı hormon (FSH) seviyeleri, Anti-Müllerian hormon (AMH) ve transvajinal ultrason kullanılarak antral folikül sayısı (AFC) en sık kullanılan yumurtalık fonksiyon göstergeleridir. X szbYumurtalık disfonksiyonu çeşitli faktörlerden kaynaklanabilir ve bir uzman tarafından değerlendirilmelidir (Shi *et al.* 2016).

Anovülasyon, bir kadın adet döngüsü boyunca yumurtlamadığında meydana gelir. Aşağıdakiler, anovülasyonun olası nedenlerinden bazılarıdır (Dağ and Dilbaz 2015):

- Polikistik over sendromu (PCOS), kadınların ara sıra yumurtlamasına veya hiç yumurtlamamasına neden olan bir hastalıktır. PCOS'lu bazı kadınların testosteron seviyeleri yüksektir, bu da akneye ve aşırı saç büyümesine neden olabilir. Kadın kısırlığına en çok PCOS neden olur.
- Azalan yumurtalık (DOR), kadınlar sahip olacakları tüm yumurtalarla doğarlar ve yumurta sayıları doğal olarak yaşla birlikte azalır. Azalmış yumurtalık rezervi olarak bilinen bir hastalık, yumurtalıkların belirli bir yaş için beklenenden daha az yumurtaya sahip olması durumunda ortaya çıkar. Konjenital, tıbbi, cerrahi veya bilinmeyen nedenler tüm olasılıklardır. Yumurtalık rezervi düşük olan kadınlar yine de doğal olarak hamile kalabilirler (Shi *et al.* 2016).
- Uygun olmayan hipotalamik ve hipofiz bezi işlevi, beyindeki hipotalamus ve hipofiz bezleri tarafından üretilen hormonlar yumurtalık fonksiyonunu normal tutar. Hipofiz bezi çok fazla prolaktin üretiyorsa (tipik olarak iyi huylu bir hipofiz bezi tümörünün bir sonucu olarak) veya beyin veya hipofiz bezi düzgün çalışmıyorsa bir kadın yumurtlamayabilir.
- Erken yumurtalık yetmezliği (POI), erken menopoz olarak da bilinen POI, bir kadının yumurtalıkları 40 yaşına gelmeden işlevini yitirdiğinde ortaya çıkar. Kemoterapi veya pelvik radyasyon tedavisi gibi bazı tıbbi durumlar POI üretebilse de nedeni genellikle bilinmemektedir. POI'li kadınların yaklaşık %5 ile %10'u spontan gebe kalır ve sağlıklı bir gebelik geçirir.

- Menopoz, 50 yaş civarında meydana gelen yumurtalık fonksiyonunun kademeli olarak kaybıdır. Menopozdaki bir kadın en az bir yıldır adet görmemiştir. Ateş basmaları, ruh hali değişimleri, uyku güçlüğü ve diğer semptomların tümü olasıdır (Dağ and Dilbaz 2015).

Pelvik enfeksiyon öyküsü, rüptüre apandisit öyküsü, gonore veya klamidya öyküsü, bilinen endometriozis dış ikonu veya abdominal cerrahi öyküsü, tıkalı fallop tüpleri dış ikonu (tubal oklüzyonu) için risk faktörleridir. Fallop tüplerini (CP) değerlendirmek için bir histerosalpingogram (HSG) veya kromo pertürbasyon kullanılabilir. Rahim ve fallop tüplerinin röntgenine histerosalpingogram denir. Kromopertübasyon, ameliyathanede laparoskopi sırasında yapılması dışında HSG'ye benzer. Anormal Rahim konturu (rahmin fiziksel özellikleri) (Işik *et al*. 2016).

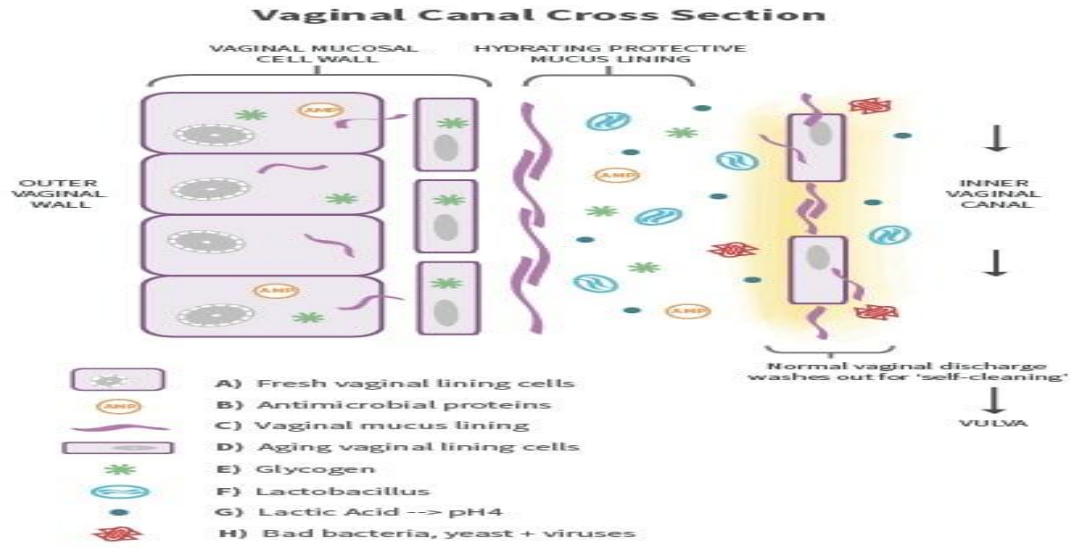
2.3 Bakteriyel Vajinoz (BV)

2.3.1 Bakteriyel vajinozun tanımı

Üreme çağındaki kadınlarda bakteriyel vajinoz (BV) en sık görülen genital sistem enfeksiyonudur (Şekil 2.6). Vajinal mikrobiyota, aeroblar ve anaeroblar dahil olmak üzere 5-15 farklı bakteri türünden oluşur ve çeşitli klinik semptomlara (örneğin, bakteriyel vajinoz) ve hastalıklara (örneğin, pelvik inflamatuar hastalık) neden olabilir. *Escherichia coli*, hem hamile hem de hamile olmayan kadınların mikrobiyotasında sıkça bulunan bir bakteridir (Obata-Yasuoka *et al.* 2002).

BV durumunda biyofilmlerin özellikleri, floresan in situ hibridizasyon (ISH) gibi çağdaş teknolojiler kullanılarak değerlendirilmiştir. Vajinal mikrobiyotanın disbiyozunu işaret eden bu polimikrobiyal durumda bakteriyel patojenlerin konsantrasyonu yükselirken *Lactobacillus* konsantrasyonu azalır. *Lactobacillus* varlığı tanıyı koyabilecek tek bir bakteri olmasa bile GV ve AV'nin her ikisi de BV'nin belirteçleridir (Swidsinski *et al.* 2005).

BV'nin bir mikroorganizma kompleksi tarafından üretildiği yaygın olarak kabul edilmesine rağmen, değişiklikleri neyin tetiklediği konusunda anlaşmazlık vardır. *G. vaginalis*, BV enfeksiyonunu temsil eden ilk bakteridir ve şu anda teşhisle bağlantılı başlıca patojendir. Amsel *et al.* (1983), daha önce nonspesifik vajinit olarak adlandırılan ve ilk olarak 1955'te Gardner ve Dukes tarafından tanınan BV için 1983'te klinik tanı kriterleri oluşturmuştur (Fjeld and Raknes 2019).



Şekil 2.6 Vajinal kanal içinde bakteri varlığı (Obata-Yasuoka *et al.* 2002).

BV, sağlıklı vajinanın normal florası olarak sıklıkla bulunan laktobasil sayısında belirgin bir azalma ve *Gardnerella vaginalis, Atopobium vaginae, Bacteroide*s spp., *Prevotella* spp. dahil olmak üzere diğer çeşitli anaerobik bakteri sayısında bir artış ile karakterizedir (Nisha *et al.* 2019).

Erken doğum, düşük doğum ağırlığı, doğum sonrası endometrit ve pelvik inflamatuar hastalık, BV ile bağlantılı obstetrik ve jinekolojik problemler arasındadır. BV'nin patofizyolojisi ile bağlantılı unsurlar henüz tam olarak anlaşılmamıştır (Nisha *et al.* 2019). Bunun için, *Lactobacillus iners* ve *Gardnerella vaginalis* tarafından üretilen gözenek oluşturucu toksinler, aerolizin (INY) ve valinomisin (VLY), elektrokimyasal tekniklerle yapay kolesterol açısından zengin bağlı çift katmanlı membranlar (tBLM'ler) kullanılarak incelenmiştir (Nisha *et al.* 2019).

Yapılan çalışmalarda, *Lactobacillus*'un *G. vaginalis*'e bağlılığı engellediğini ve yapışık *Lactobacillus*'un *G. vaginalis* ile değiştirildiği bulunmuştur. Diğer araştırmacılar ise, *G. vaginalis* ve diğer anaeroblar tarafından biyofilm gelişiminin, BV vakaları üzerindeki etkisini incelemişlerdir (Castro *et al.* 2013).

BV ile ilişkili olan izolatlar, biyofilm ile ilişkili protein geninin farklı bir versiyonuna ve sağlıklı bir vajinal suştan daha fazla yapışma oranına, agregasyon ve biyofilm oluşumuna sahiptir. BV hastalarından elde edilen *G. vaginalis* izolatlarının çoğunluğu, sağlıklı kadın izolatlarından daha fazla virülans faktörüne sahiptir. Yapılan çalışmalarda BV ile kondom kullanımı arasında olumsuz bir ilişki olduğu ve risk oranının 0,8 olduğu bulunmuştur (Nisha *et al.* 2019).

2.3.2 Klinik bulgular

En sık görülen semptom kötü kokulu, balıksı vajinal akıntıdır. Adet sırasında ve cinsel ilişkiden sonra koku genellikle daha kötüdür. Kan ve spermin alkali bileşimi, anaerobik bakterileri uçucu amin metabolitlerini üretmeye teşvik eder. Vajinal akıntı genellikle ince, koyu veya donuk gri renkli, homojen ve köpüklüdür. Maya vajiniti ile ilişkili vulvar kaşıntı ve rahatsızlık nadirdir (Haahr *et al*. 2019).

Konakçıda güçlü bir polimorfonükleer lökosit görülmesi yaygındır. Ultrason teknolojisi, çeşitli tıbbi sektörlerde kullanılır ve genellikle güvenli ve hassas bir teşhis aracı olarak kabul edilir. Bununla birlikte, özellikle endovajinal ve endorektal ultrason probları gibi dahili problarla enfeksiyon bulaşma tehlikesi konusunda son yıllarda artan endişeler olmuştur. Temel endişe, probların zararlı mikropları içermesi ve böylece bir patojen gibi davranmasına izin vermesidir (Nyhsen *et al.* 2016, Chen *et al.* 2021).

BV semptomları olan hastalarda sıklıkla artmış vajinal akıntı ve belirgin bir balık kokusu vardır. BV'li infertilite hastalarında reprodüktif sonuçlara sadece birkaç çalışmada ele alınmış olsa da mevcut literatür BV ve anormal alt genital sistem mikrobiyotasının sıklıkla infertilite ile ilişkili ve infertilite hastalarında referans popülasyona göre önemli

ölçüde daha yaygın olduğunu ortaya koymuştur. BV, her beş infertilite hastasından birini etkiler ve her üç kişiden en az birinde bozulmuş bir vajinal mikrobiyota vardır. Ayrıca tubal infertilite hastalarında BV riskinin tubal olmayan infertil bireylere göre daha fazla olduğu tespit edilmiştir (Massar *et al*. 2017).

Meta-analizlere göre, çalışmalar sürekli olarak BV'nin gebe kalma oranlarını etkilemediğini ortaya koymaktadır. Son olarak, BV, wtopre klinik gebelik kaybıyla ilişkili olup birinci trimesterde görülen düşükle ilgili değild(ir. Sonuç olarak, mevcut veriler BV'nin infertilite hastalarının etiyolojisinde ve gebelik sonuçlarında rolü olabileceğini ima etmektedir (Van Oostrum *et al.* 2013).

Semptomatik, asemptomatik veya latent enfeksiyonlar veya bunların sekelleri ayrıca serviks ve endometriumun kronik inflamasyonuna, üreme sistemi salgılarındaki değişikliklere, gamet veya embriyo fizyolojisine müdahale eden immün mediatörlerin indüksiyonuna ve intrauterin sineşi gibi yapısal bozukluklara da katkıda bulunabilir. Enfeksiyon aynı zamanda erkek kısırlığında da önemli bir faktördür ve oligospermiden sonra ikinci sıradadır (David *et al.* 2019).

BV'li kadınların yaklaşık yüzde 50 ile 75'inde hiçbir semptom görülmez. Semptomları olanlar genellikle cinsel ilişkiden sonra, adet sırasında ve adetten hemen sonra daha belirgin hoş olmayan, "balık kokulu" bir vajinal akıntıya dikkat çekerler. Beyazımsı ve ince olan vajinal akıntı da mevcut olabilir. Bazı hastalarda kaşıntı vardır. İdrar yaparken veya cinsel ilişki sırasında ağrı, kızarıklık ve şişme her zaman olmayabilir (Nasioudis *et al.* 2017).

2.3.3 Risk

IVF'yi takiben, bakteriyel vajinoz, kimyasal gebelik olarak da bilinen klinik öncesi gebelik kaybı olasılığında iki kat artışla bağlantılıdır. Hamilelik sırasında BV'si olan kadınlarda bebek için düşük, erken doğum ve düşük doğum ağırlığı sorunlarının yanı sıra doğum sonrası enfeksiyon riski vardır (Mills 2017). Birden fazla veya yeni cinsel partner,

duş ve sigara içimi BV için risk faktörleridir. Yapılan araştırmalarda BV'li infertil hastaların IVF tedavisinden sonra erken gebelik kaybı (13 hafta) risklerine bakılmıştır. Araştırmalara göre, normal yolla dünyaya gelen bir bebek, annenin mikrobiyotasına çok yakın bir mikrobiyotaya sahiptir. Plasentadan, amniyotik sıvıdan ve göbek kordon kanından değiş tokuş edilen mikroplar, daha rahimdeyken fetüs üzerinde bir etkiye sahip olabilir. Annenin mikrobiyomu doğumdan sonra emzirme yoluyla yenidoğana geçsede, mikropların genel aktarımı bebeğin vajinal kanaldan geçişi sırasında gerçekleşir. Hamilelik sırasında vajinal ortamınızdaki mikrobiyom, çocuğunuzun uzun vadeli sağlığını ve bağışıklık sistemini etkiler, bu nedenle hamilelik sırasında sağlıklı kalmasını sağlamak önemlidir (Bradshaw *et al.* 2006).

BV'li hamile kadınlar daha yüksek erken doğum riski altındadır, Histerektomi veya kürtaj geçiren bir kadında tedavi edilmeyen BV, cerrahi bölgenin enfeksiyonuna yol açabilir. BV, HIV ile enfekte olma ve HIV yayma ile genital herpes, gonore veya klamidya riskini artırır (Mills 2017).

2.3.4 Teşhis

Klinik faktörler (yani Amsel'in tanı kriterleri) veya vajinal Gram boyamadan elde edilen Nugent skoru BV'yi belirlemek için kullanılabilir (Barratt *et al.* 2017, Nugent *et al.* 1991). 0-3 arası bir Nugent skoru, *Lactobacillus*'un hakim olduğu bir vajinal mikrobiyotayı, 4-6 arası bir orta mikrobiyotayı (*G. vaginalis*'in görünümü) ve 7-10 arası bir BV'yi gösterir. Klinik BV tanısı için aşağıdaki dört semptom veya belirtiden en az üçünün olması gerekir (Nasioudis *et al*. 2017).

- Vajinal duvarları eşit şekilde kaplayan ince, homojen bir akıntı (süt kıvamında).
- İpucu hücrelerinin mikroskobik çalışması (örneğin, yapışan bakterilerle dolu vajinal epitel hücreleri)
- Vajinal sıvı pH >4,5
- %10 KOH ilavesinden önce veya sonra vajinal akıntıda balık kokusu (yani koku testi).

Sınırlı duyarlılıkları ve özgüllükleri nedeniyle, servikal Pap testleri BV'yi belirlemede yararsızdır. Semptomlar değişebileceğinden ve küçük, belirsiz veya varolmadığı için BV ve endometrit teşhisi koymak zor olabilir. Mikrobiyal kültür, histoloji, histeroskopi ve mikrobiyal kültür bulguları arasında sadece %20'lik bir uyum ile endometriumdaki enfeksiyonları tanımlamak için kullanmak zor olabilir (Ravel *et al.* 2021). Ayrıca endometriyal örnekleri enfekte eden vajinal bakterilerin olasılığı da vardır. CYBE veya bulaşmaya katkıda bulunabilecek cinsel aktivite öyküsü gibi bu enfeksiyonlar için risk faktörleri olan kadınlarda, testi başlatmak için BV, CE veya PID için orta derecede klinik şüphe yeterli olmalıdır. Bu özellikle kısırlık veya tüp kısırlığı yaşayan kadınlar için geçerlidir (Ravel *et al.* 2021).

Virülans faktörlerinin varlığının, bir organizmanın patojenik potansiyelinin en kritik belirleyicilerinden biri olduğu iyi bilinmektedir. Pili, mikrokapsüller, yüzey hidrofobisitesi, adezyon, vajinoz, fosfolipaz C, proteaz ve sideroforların yanı prolidazlar, *G. vaginalis*'in virülans faktörleridir (Nisha *et al.* 2019).

2.3.5 Önleme ve tedavi

Genellikle birkaç yaşam tarzı değişikliği yaparak vajinal mantar enfeksiyonları önlenebilir. Bu değişiklikler (Kairys and Garg 2017):

- Su veyasprey ile yıkama bakterileri öldürebilir.
- Kadınsı deodorantların kullanımından kaçınmak.
- Deodorant (kokulu), tampon veya ped kullanmamak.
- Islak giysileri, özellikle mayoları mümkün olan en kısa sürede değiştirmek.
- Su bazlı cinsel kayganlaştırıcılar kullanmak.

Bakteriyel vajinozis tedavisi bir grup antibiyotik kullanılarak yapılır (Blaser 2011).

2.4 Kısırlık ve Bakteriyel Vajinoz

İnfertilite, özellikle tubal infertilite, BV enfeksiyonu ile ilişkilendirilmiştir. Chlamydia türleri için seropozitiflik ve BV'nin varlığı, in vitro fertilizasyon (IVF) için oosit geri kazanımı uygulanan bir kadın örneğinde tubal infertilite ile hem önemli ölçüde hem de bağımsız olarak bağlantılıdır. İncelenen gruplar arasında, klamidya serolojik durumundan veya mevcut BV enfeksiyonundan bağımsız olarak gebelik oranlarında önemli bir fark bulunmamıştır (Bradshaw and Brotman 2015).

Kısır kadınların bakteriyel vajinoza yakalanma olasılığı, doğurgan olmayan kadınlara göre üç kat daha fazladır. BV, diğer enfeksiyonlar gibi, doğurganlığı çeşitli şekillerde azaltabilir. Enflamasyon ve bağışıklık sistemi aktivitesi yükselir, üreme için toksik bir ortam yaratır, sperm ve vajinal hücrelere zarar verir, yumurtlama sırasında sağlıklı servikal mukus üretimine müdahale eder ve fallopu bloke eder. Enfeksiyonlardan kaynaklanan yara dokusu hasarı nedeniyle tüpler, sperm ve yumurtanın buluşmasını önler (Blaser 2011).

Nugent-BV, üreme tedavisi arayan bir grup hastada tubal infertilite hastalarının %31,5'inde ve nontubal infertil hastaların %19,7'sinde bulunmuştur. Klamidya serolojik durumundan veya mevcut BV enfeksiyonundan bağımsız olarak gruplar arasında gebelik oranlarında fark bulunmamıştır (Ravel *et al.* 2021). İkinci araştırmada, doğurganlık tedavisi gören kadınların %12,1'i orta Nugent puanına ve %24,3'ü Nugent-BV'ye sahiptir. Ayrıca tubal infertilitesi olan kadınlar arasında yüksek bir insidans (%34,6) bulunmuştur (Blaser 2011).

IVF bağlamında, BV kısırlık sorunlarıyla ilişkilendirilmiştir. Vajinal laktobasil prevalansı daha düşük olan kadınların, laktobasil prevalansı daha yüksek olan kadınlara göre başarılı embriyo implantasyonuna sahip olma olasılığı daha düşüktür. Daha az mikrobiyal çeşitliliğe ve daha fazla anormal vajinal mikrobiyota oranına sahip kadınların IVF'den sonra kötü üreme sonuçlarına sahip olma olasılığı ise daha yüksektir (Haahr *et al.* 2019).

2.5 Virülans Genleri

Virülans ve direnç genlerinin kazanılmasıyla, mikroorganizmaların patojenitesini ve büyük bir tedavi başarısızlığı olasılığı ile enfeksiyonun şiddetini arttırdığına inanılmaktadır. Virülans genlerinin önemi ve patojenite üzerindeki etkilerinin yanı sıra, direnç genleri tedavi başarısızlığında ve artan ölüm oranlarında hayati bir rol oynamaktadır. 2050 yılına kadar, çoklu ilaç (MDR), genişletilmiş ilaç (XDR) ve pan ilaç direncinin yayılması önlemedki başarısızlık, ölüm oranlarını 10 milyon kişiye yükselebileceğini göstermektedir. Sığırlarda büyüme destekleyicilerinin yanı sıra tıbbi ve antibiyotiklerin kötüye kullanımı, sefalosporinler ve tetrasiklinler dahil olmak üzere çok sayıda antimikrobiyal sınıfa karşı direncin oluşmasına neden olmuştur (Massar *et al.* 2017).

Patojen-konak ilişkisini, enfeksiyon sırasında beslenme emilimi, bağışıklık savunma kalkanı, bağlanma ve patojen tarafından konak yanıtlarının modifikasyonu dahil olmak üzere çeşitli şekillerde etkileyebilir. Virülans faktörünü kodlayan genler genellikle zararsız suşların genomlarında bulunmaz. Ayrıca, sıklıkla konjugasyon (yani, iki bakteri arasında genetik materyalin transferi) yoluyla aktarılan yatay olarak edinilmiş MGE özelliklerine sahip mobil genetik elementler (MGE) veya lokuslar üzerinde kodlanırlar (Diard and Hardt 2017). Örneğin, *Streptococcus agalactiae* diğer ciddi hastalıkların yanı sıra septisemi, zatürree ve menenjite neden olur. Ayrıca koryoamniyonit, doğum sonrası endometrit, sezaryen sonrası cerrahi yara enfeksiyonu ve idrar yolu enfeksiyonu da hamile ve lohusa kadınlarda sık görülen enfeksiyonlardır (Polley *et al.* 2017). Konak-bakteriyel hücre teması için gerekli olan kapsüler serotip ve virülans faktörleri yenidoğan hastalığının şiddetinde önemli bir role sahiptir.

3. MATERYAL VE METOT

3.1 Materyal

Bu çalışmada, yaşları 20 ile 40 arasında değişen 95 kadın vaka seçilmiştir. Seçilen kadınlar kısırlık dönemine giren ve iyi yumurtalık rezervi olanlar olarak gruplandırılmıştır. Alınan sürüntü örneklerinde bakteriyel vajinozisin gebelik üzerindeki etkisi ve antibiyotiğe dirençli bakterilerin bazı virülans genleri araştırılacaktır.

3.1.1 Cihaz ve ekipman

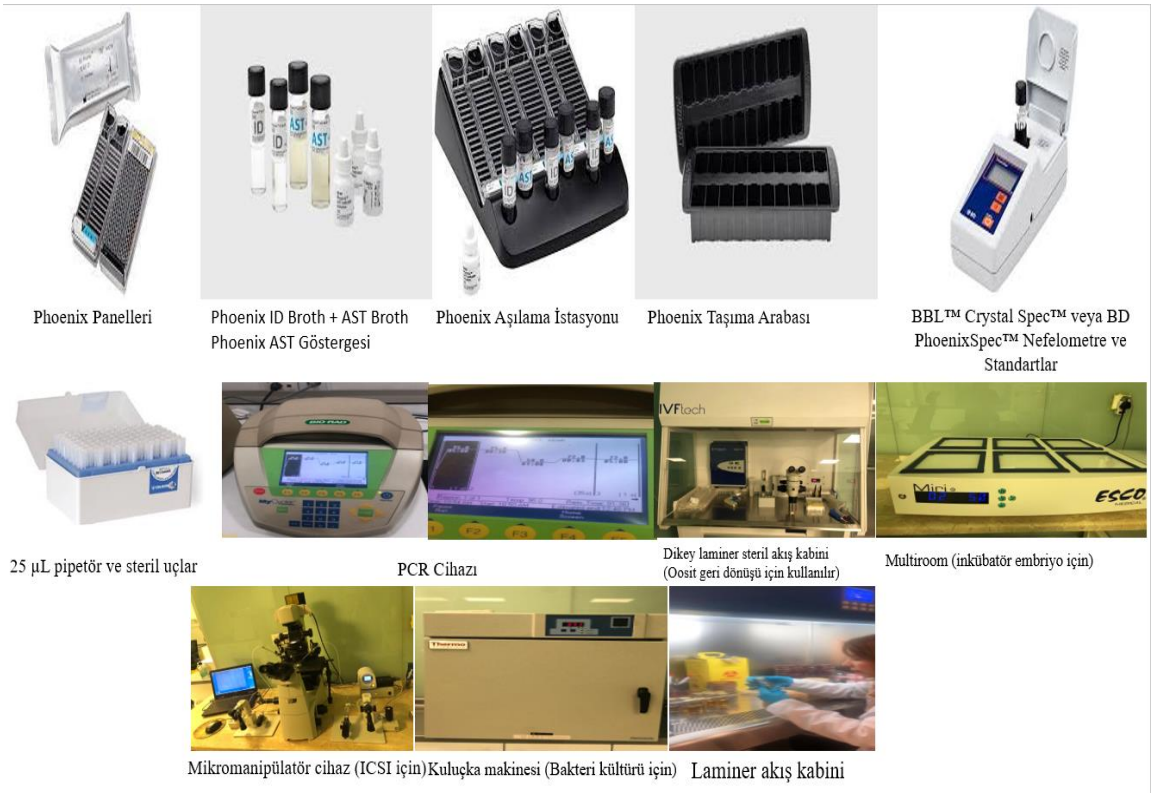
Çalışmada labaratuarda kullanılan sarf malzemeler; Sürüntü, petri kabı, kanlı agar (Scharlau), MacConkey agarı (Scharlau), beyin kalp infüzyon agarı (Scharlau), halka, vidalı kap, eppendorf tüpü, Chelex®100 (Bio-Rad Corporation, ABD), TE (Tris-Baz+Sodyumlu EDTA), primerler (Alpha ADN, SENC), jel agaroz, gram boyama reaktifleri. olarak sayılabilir.

Phoenix m50: BD Phoenix M50, mikrobiyoloji laboratuvarına aynı anda tanımlama (ID) ve antibiyotik duyarlılık testi (AST) tespitleri ve çok daha fazlasını yapma kapasitesi verir. ID, 45 kromojenik ve florojenik substrata dayalıdır ve reaktif ilaveleri veya çevrim dışı testler sağlamaz, zamandan ve paradan tasarruf sağlar. Beş zamanlı bağımlı veri tabanları, klinik olarak önemli organizmalar için en geniş ID veri tabanı olan yüksek doğrulukta tanımlama sağlar (Şekil 3.1).



Şekil 3.1 Phoenix m50

Phoenix m50 için gerekli olan malzemeler Şekil 3.2'de belirtilmiştir;



Şekil 3.2 Phoenix m50 için gerekli olan malzemeler ve kullanılan diğer cihazlar ve araçlar

3.2 Yöntem

Çalışma tasarımı:

Bu çalışmada, yaşları 20 ile 40 arasında değişen 95 kadın vaka seçilmiştir. Seçilen kadınlar IVF döngüsüne giren, normalde doğurgan olan (iyi yumurtalık rezervi olan) ve eşlerinden alınan numuneleri bir IVF işlemi için normal ile kabul edilebilir arasında olan bireylerdir. Alınan örneklerde bakteriyel vajinozisin gebelik üzerindeki etkisi ve antibiyotiğe dirençli bakterilerin bazı virülans genleri araştırılacaktır.

3.2.1 Örnek koleksiyon

Oosit toplama işlemi sırasında, Irak'ın Süleymaniye kentindeki özel uluslararası hastane-IVF merkezinde bu prosedür uygulanan ve sekresyonlar, kaşıntı veya hoş olmayan koku gibi bakteriyel vajinoz semptomları gösteren kadınlardan vajinal sürüntüler alınmıştır.

3.2.2 Prosedür

3.2.2.1 Tanımlama ve anti duyarlılık testi

Kadınlardan alınan vajinal sürüntüleri uygun besiyerinde kültürledikten sonra 24 saat küvözde inkübe ediylimiştir..Bakteri kolonilerinin geliştiği görüldüğündeŞar Devlet Hastanesi Akıllı Özel Kliniğin Bakteriyoloji Laboratuvarında bulunan Phoenix M50 cihazı ile teşhisyapılmıştır. İzolatlardaki Gram boyama reaksiyonuna göre Gram negatif ve Gram pozitif bakteriler için uygun plaklar kullanılmıştır.

Agar plak üzerinde oluşan aynı şekil ve büyüklükteki saf koloniler özeler kullanılarak seçildi. Bakteri kolonilerini içeren öze, Phoenix ID su (4,5 mL) ile süspanse edildi. Süspansiyon, iyice karışması için Vortex cihazının içine yerleştirildi, Bundan sonra, süspansiyon tüpü, BD Phoenix spec Nefelometre içine yerleştirildi (Konsantrasyon 0,25 olmalıdır).

İnokulum yoğunluğu çalıştırılan plaka tipi için 0,5'e ayarlanmıştır. 0,50-0,60 aralığı kabul edilebilir bir değerdir. Bir damla AST indikatör solüsyonu, AST broth tüpüne serbestçe damlatılmıştır. ID tüpündeki bakteri süspansiyonunun 25 µL'si AST broth tüpüne aktarılmıştır. ID tüpü inokulumu, plakanın ID tarafındaki (51 kuyulu kısım) doldurma portuna, AST tüpü inolulumuda AST paneli üzerindeki (85 kuyulu kısım) dolum portuna dökülmüştür. İnokülasyonu takiben 30 dakika içerisinde paneller cihaza yerleşitirlmiştir. Cihazdan 24 saat sonra sonuç alınmıştır.

3.2.2.2 Moleküler tanı

Bakteriyel vajinoz için virülans genlerinin varlığı aşağıdaki şekilde tespit edilmiştir.

Bakteriyel izolatların DNA'sı Chelex®100 (Bio-Rad Corporation, ABD) kullanılarak ekstre edilmiştir. Her numune için öze ile az sayıda bakteri kolonisi alınmıştır ve 200 µL Chelex®100 ve 100 µL TE içeren örnekler 0,6 mL'ye tamamlanmıştır. Daha sonra tüpler 95°C'de su banyosuna yerleştirilmiştir. Örnekler çıkarıldı ve 10 dakika 13,000 rpm'de santrifüjlendi. Ardından DNA içeren üst sulu tabaka örneklerden dikkatlice çıkarıldı ve 0,2 mL'lik tüplere yerleştirildi. Daha sonra buzdolabında -4°C sıcaklıkta saklandı.

Bakteriyel vajinoz teşhisi konulurken, en dirençli bakteri türü için özel bir gen primeri kullanılmıştır (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1 Gen primeri

Virülans Gen	**Ön Primer**	**Ters Primer**
Papc	GACGGCTGTACTGCAGGGTGTGGCG	CTGCCGACATGACGTCCCACACCGC
Kaynak	(Obata *et al*. 2002)	
Kfu	GAAGTGACGCTGTTTCTGGC	CTTCACTGACAAAGACCG
Kaynak	(Jawad 2017)	
Lmb	GACGCAACACACGGCAT	CTGCGTTGTGTGCCGTA
Kaynak	(Bobadilla *et al.* 2021)	

Amplifikasyon: Amplifikasyon 25 µL hacimde yapılmıştır

Çizelge 3.1 de verilen genler için gerekli koşullar Çizelge 3.2 ve Çicelge 3.3'de verilmiştir (Obata *et al*. 2002).

Karışım:

- 12,5 µL Ana karışım
- 0,5 µL ileri primer
- 0,5 µL ters başlatıcı.
- 5 µL genomik DNA.

Denatürasyon:

- Reaksiyon, 94°C'de 5 dakika süreyle gerçekleştirildi.
- Ardından 30 saniye boyunca 94 °C'lik 35 döngü
- 58°C 1 dakika ve 72°C 30 saniye

Son Uzantı:

- 72 °C'de 5 dakika

PCR bileşenleri:

- %2 agaroz jel üzerinde ayrılarak
- Etidyum bromür ve UV ışığı altında fotoğraflanır (Çizelge 3.1) (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2 Kfu geninin primeri için gerekli koşullar

PCR Adımları	**Döngü**	**Sıcaklık**	**Zaman**
On Denatürasyon	1	95	5 dakika
Denatürasyon	35	95	30 saniye
Bağlanma		54	1 dakika
Eklenti		72	30 saniye
Son uzatma	1	72	5 dakika
Tutmak		4	

Çizelge 3.3 Papc geni ve Lmb geninin primeri için gerekli koşullar

PCR Adımları	Döngü	Sıcaklık	Zaman
Ön Denatürasyon	1	95	5 dakika
Denatürasyon	35	95	30 saniye
Bağlanma		52	1 dakika
Eklenti		72	30 saniye
Son uzatma	1	72	5 dakika
Tutmak		4	

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 Yaş Kategorileri

Yaş, IVF'nin başarısını ve genel doğurganlığı çeşitli şekillerde etkilemektedir. Yaşlanma ayrıca başarılı bir IVF prosedüründen sonra düşük yapma şansını ve Down sendromu gibi kromozomal bozuklukların risklerini artırmaktadır. Çalışmamızda yaş aralığını 20-40 yaş olarak seçiş olsa da örenk aldığımız tüp bebek hastalarının en fazla 30 yaş üstü kadınlar olmuştur. Bu da 20-30 yaş aralığında tüp bebek tedavisi görenlerin sayısının daha düşük olduğunu gösterebilir. Ubaldi *et al.* 2019 tarafından yapılan çalışmada da yaş aralığı bizim çalışmamızla uyumluluk göstermiştir (Çizelge 4.1)

Çizelge 4.1 IVF hastalarını yaşı

Yaş	Örnek Sayısı
20-30 yıl	34
30-40 yıl	61

4.2 Hastaların Kan Grupları

Kan grubu yumurta rezervi arasında herhangi bir ilişki kuruluğ kurulamayacağına dair hastaların kan grupları da tespit edilmiştir. Örnekler arasında kan gruplarında Çizelge 4.2 gibi bir dağılım görülmüştür.

Çizelge 4.2 IVF hastalarının kan grupları ve yaşı

Kan grubu	Örnek sayısı	Rh+	Rh-
A	25	23	2
B	23	19	4
AB	10	10	--
O	37	35	2

Kan grubu A, kan grubu O, kan grubu AB ve kan grubu B birbirleriyle karşılaştırıldığında yumurtalık rezervinde artış ile ilişkili değildi. Kan grubu A olan kadınların yumurta rezervlerinin yüzdesi farklıydı, diğer kan gruplarında olduğu gibi bazılarının yumurta rezervi yüksek, bazılarının yumurta rezervi düşüktü.Ayrıca kan grubunun yumurtalık rezervi, embriyo kalitesi veya kısırlık üzerinde de hiçbir etkisi yoktur (Timberlake *et al.* 2013).

4.3 Numune Tanımlama Sonuçları

20-40 yaş arası kadınlardan 95 örnek (vajinal sürüntü) toplanmıştır. Alınan örneklere ait sonuçlar Çizelge 4.3'te gösterilmiştir. Buna göre alınan örneklerin 63'ü Vajinal enfeksiyonlu pozitif numune ve 32'si negatif numune (berrak) olarak gruplandırılmıştır. 20-30 yaş aralığındaki tüp bebek tedavisi gören kadınlarda enfeksiyon, 30-40 yaş tüp bebek tedavisi görenlere göre daha düşüktür.

Cizelge 4.3 Vakaların enfeksiyon sayıları

Yaş	Toplam pozitif örnek sayısı (63 ÖRNEK) örnek	Toplam negatif örnek sayısı (32 ÖRNEK) örnek
20-30 yıl	19	15
30-40 yıl	44	17

Pozitif örneklerin tanısal sonuçlarında bakteri çeşitliliği kaydedildi, çünkü sonuçlar 40 örnekte görüldüğü gibi vajinada en sık görülen mikroorganizmanın bakteriyel vajinoz olduğunu ortaya koydu. Bunu, enfekte olmuş 17 örnekte mantar ve maya görünümü izledi. Farklı mikroplarla (bakteri, mantar ve maya) karıştıkları için tanımlayamadığımız enfekte örnekler de vardı, bu nedenle böyle bir durumda teşhis amaçlı saf koloniler elde etmek zordu ve dış temastan kontaminasyon olasılığı nedeniyle ihmal edildiler (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4 Bakteriyal ve fungal enfeksiyon bulaşan vaka sayısı

Yaş	**Bakteri Toplam (40/63)** %100	**Mantarlar ve mayalar Toplam (17/63)** %100	**Karışık (kontamine) numuneler Toplam (6/63)** %100
20-30 yıl	11	7	1
30-40 yıl	29	10	5

Önceki sonuçlara göre, bakteriyel vajinozun IVF uygulanan kadınlar arasında çok olduğu bulundu. Bu nedenle çalışmamız, diğerleri (mantar örnekleri ve *Candida albicans* örnekleri) olmadan nedensel bakteriyel vajinoz tipinin ayrıntılarını ortaya çıkarmakla sınırlıydı.

Koloni tiplerinin teşhisinde ve bunlara uygun antibiyotiğin bulunmasında pahalı bir sistem olmasına rağmen en modern ve doğru sonuçların elde edildiği cihaz olan Phoenix M500 kullanılarak, enfekte numunelerden bakteri kolonileri teşhis edildi. Tablo 4.5 oluşan bakteri türlerini ve sayılarını göstermektedir**.**

Çizelge 4.5 Vajinadaki bakteri türleri

Bakteri Türleri	**Toplam Numune Sayı 40**
Burkholderia cepacia	11
Escherichia coli	4
Klebsiella pneuomoniea	5
Pseudomonas aeuroginosa	2
Streptococcus agalactiae	5
Staphylococcus epidermic	1
Staphylococcus sciuri	1
Streptococcus gallery	1
Enterococcus faecalis	1
Streptococcus upris	1
Streptococcus haemolyticus	1
Lactobacillus ssp.	7

Farklı oranlarda 10'dan fazla bakteri türü ortaya çıkmış olup, vajina ve rahim boynunda bulunan bakteri izolatları arasında belirgin bir çeşitlilik vardı.

Escherichia coli vajiniti ile enfekte olan kadınların çoğunun suni döllenme yoluyla hamile kalamadığı tespit edilen edilmiştir. Bu bulgu, *Escherichia coli* suşunun vajinada mevcut olduğunda döllenme sonucunda önemli bir rol oynadığını belirten (Kaur *et al.* 2014) çalışmasındaki sonuçlarla benzerdir.

Ayrıca *Lactobacillus* ssp. orada bulunduğunda normal bir flora olarak kabul edilen vajinada ortaya çıktı. Ancak vücutta başka bir yere taşındıkları zamanlar dışında bir yerde normal flora olarak kabul edilen başka bakteri türleri de vardır. Sağlıklı insanların bağırsaklarında yaşayan ancak vajinaya geçtiğinde enfeksiyonlara ve hastalıklara neden olan *Escherichia coli* bakterisi gibi, patojenik hale gelerek enfeksiyona ve dolayısıyla gebelikten sonra kısırlığa veya düşüklere yol açabilen diğer komplikasyonlara yol açarlar.

Sonuçlar aracılığıyla, bakteriyel vajinozis ve iltihaplanmaya neden olan farklı bakteri türleri ile enfekte olmuş birçok kadın olduğu tespit edilniştir. Bazıları vajina dışında normal floraya sahiptir ancak vajinaya yapıştıklarında enfeksiyona ve dolayısıyla *Escherichia coli* gibi gebelik sonrası kısırlığa veya düşüklere neden olabilecek diğer komplikasyonlara yol açmaktadır. Bakteriler normalde sağlıklı insanların bağırsaklarında yaşayabilir ama vajinaya geçtiğinde enfeksiyon ve hastalıklara neden olur.

Vajinal enfeksiyonlara neden olan mikroorganizmalar çok çeşitlidir. Antibiyotik kullanımı veya pH dengesi nedeniyle laktobasilde azalma gibi tipik bakteri popülasyonundaki bir değişiklik, daha dirençli bakterilerin çoğalmasını teşvik edebilir. Bu mikroorganizmalar da vücudun doğal savunmasını zayıflatan ve faydalı bakterilerin kolonileşmesini zorlaştıran toksinler üretir.

Çalışmamızda tespit ettiğimiz diğer bir tür olan *Burkholderia cepacia,* izolatlarda %27,5 oranı ile en çok tespit edilen türdür. *B. cepacia*, çoklu ilaca dirençli bir Gram-negatif bir

bakteridir. Besin açısından fakir sıvılarda ve nemli ortamlarda hayatta kalma ve çoğalma yeteneğine sahiptir, Genellikle hastanelerde görülür.

B. Cepacia'nın ameliyathane sterilizasyon yöntemlerinden ve kullanılan tıbbi aletlerden (spekulum + transvajinal ultrason) farklı olan gelişmiş ve güçlü sterilizasyon yöntemleri uygulandıktan sonra örneklerde tamamen kaybolduğu bulunmuştur.

Yine tespit ettiğimiz başka bir tür *Streptococcus agalactiae*, yenidoğan morbidite ve mortalitesinin yanı sıra hamile kadınlarda ve hamile olmayan yetişkinlerde, özellikle *Diabetes Mellitus* veya immünosupresyon gibi altta yatan tıbbi durumları olanlarda ciddi enfeksiyonların önde gelen nedenlerinden biridir. Genital yolu kolonize eden, yenidoğana bulaşmayı sağlayan ve yenidoğan enfeksiyonunu önleyen insan bağırsak mikrobiyotasının bir üyesidir.

4.4 Virülans Genlerinin Moleküler Tanı (PCR) Sonuçları

Gebelik sonuçlarını en çok etkileyen ve antibiyotiğe en dirençli bakterilerin virülans genleri incelenerek moleküler tanı yapıldı. Ayrıca ülkede bazı bakteri türleri için özel primerlerin olmaması. Bu nedenle, virülans geni üç bakteri türü için incelenmiştir:

Bunlar; *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* ve *Streptococcus agalactiae* dır.

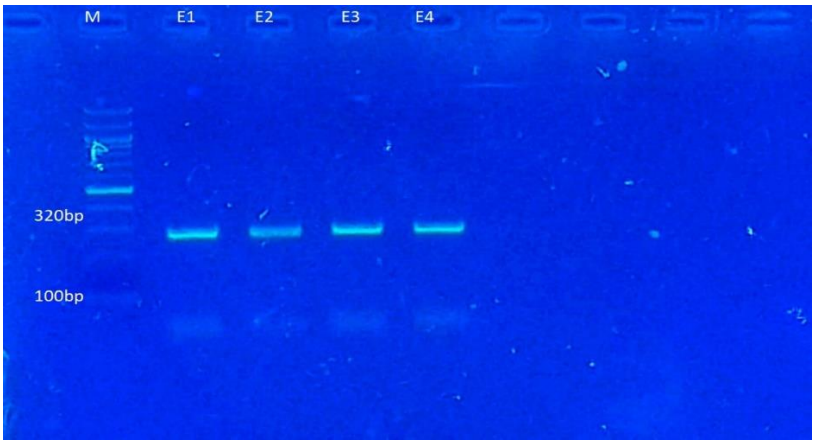
Bakterilerin her birinden çalışma için bir gen seçildi: *Escherichia coli'*de PapC geni**,** *Klebsiella pnömoni*'de Kfu geni ve *Streptococcus agalactiae'*de Lmb geni (Çizelge 4.6)

Çizelge 4.6 Bakteri türlerinde belirlene virülans genleri

Bakteri türleri	Virülans geni	Virülans geni için pozitif örneklerin toplamı	Virülans geni için negatif örneklerin toplamı
Escherichia coli	PapC	4	--
Klebsiella pneuomoniea	Kfu	4	1
Streptococcus agalactiae	LMB	4	1

4.4.1 *Escherichia coli*'nin PapC geni

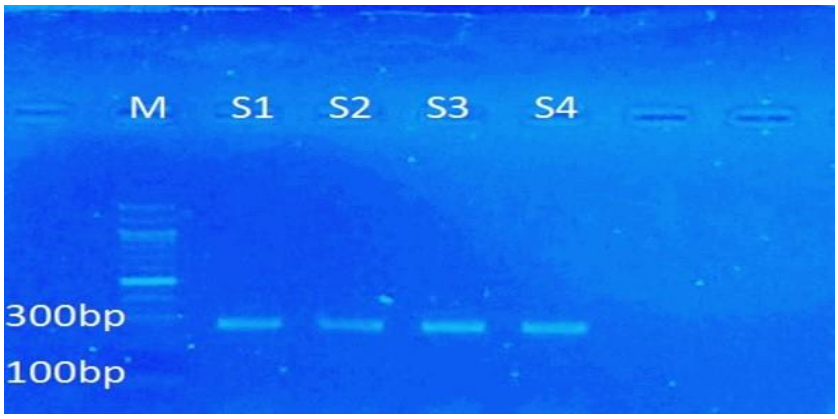
Escherichia coli teşhisi konan dört örnek için PCR tekniği ile Pap geninin moleküler tespiti gerçekleştirilmiştir ve bunun sonucunda tespit edilen tüm virülans taşıyıcıları PapC geni olduğu bulunmuştur (Şekil 4.1)



Şekil 4.1 UV ışığı altında PapC gen elektroforezi

4.4.2 *Streptococcus agalactiae*'nin Lmb geni

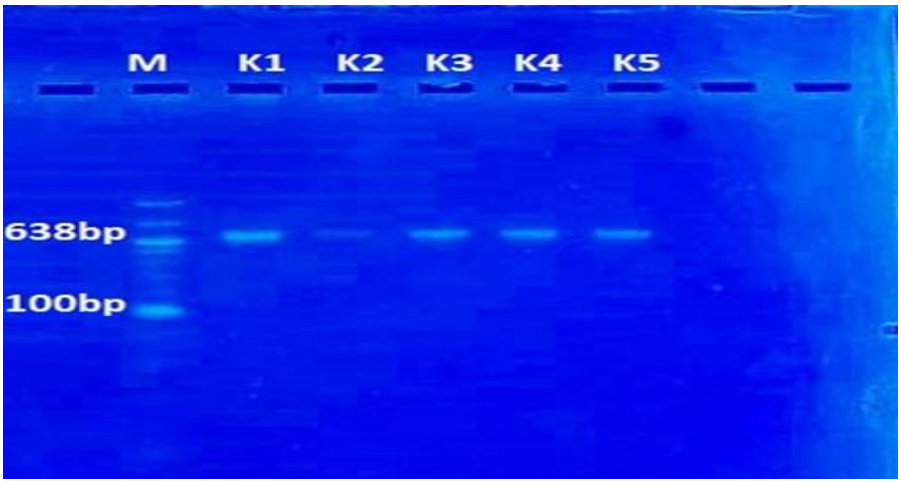
Streptococcus agalactiae teşhisi konan beş örnek için PCR tekniği ile Lmb geninin moleküler tespiti gerçekleştirilmiştir ve bunlardan sadece dördünün virülans geninin Lmb geni taşıyıcısı olduğu bulunmuştur (Şekil 4.2).



Şekil 4.2 UV ışığı altında Lmb gen elektroforezi

4.4.3 *Klebsiella pneumonia*'da Kfu geni

Klebsiella pnömonisi teşhisi konan beş örnek için PCR tekniği ile Kfu geninin moleküler tespiti gerçekleştirilmiş ve bunlardan sadece dördünün virülans geninin Kfu geni taşıyıcısı olduğu bulunmuştur (Şekil 4.3).



Şekil 4.3 UV ışığı altında Kfu gen elektroforezi

4.5 Virülans Genleri ve Hamilelik Sonuçları

Örneklerin çoğunda *E. coli, Klebsiella penumoniea ve Streptococcus agalactia* tespi edildi. Bu türler virülans genler taşımaktadır. Bu da infertil kadınların vajinasında bulunan bu bakterilerin hastalık, enfeksiyon ve gebelik başarısızlığına neden olduğunun bir göstergesidir (Çizelge 4.7)

Çizelge 4.7 Virülans genlerine sahip bakteri ile enfekte kişilerde gebelik sonuçları

Bakteri türleri	Örnekleme Toplam	Virülans genleri	Virülans geni için pozitif	Virülans geni için negatif	Pozitif gebelik testi
Escherichia coli	4	PapC	4	--	1
Klebsiella pneuomoniea	5	Kfu	4	1	3
Streptococcus agalactiae	5	Lmb	4	1	4

Virülans genleri taşıyan bakteriyel enfeksiyon bulaşmış vakaların gebelik sonuçları değişkenlik göstermiştir çünkü enfekte vakaların çoğunda hamilelik testi sonuçları pozitif olarak tespit edilmiştir. Enfekte vakaların çoğunun gebelik testi için negatif olduğu *Escherichia coli* ile enfekte olan vakalar dışında bu durum, vajina ve vajinal kanaldaki *E. coli*'nin doğurganlık sonuçlarında önemli bir rol oynadığı fikrini doğrulamaktadır (Kaur and Prabha 2014).

Demir alım sistemini kodlayan Kfu geni, virülent hiper mikroviskozite fenotipi ve pürülan doku enfeksiyonları ile bağlantılı varsayılan patojenik bir gendir. Çalışmamızda *Klebsiella pneumonia* ve Kfu geninin arasındaki prevalans %25 olarak tespit edilmiş olup diğer çalışmalarla benzerlik göstermiştir (Massar *et al.* 2017). Streptococcus agalagtia'da ise konakçı hücrenin hücre dış matrisindei, özellikle koryoallantoik zardaki laminin'e bağlanarak merkezi sinir sisteminin endotel hücrelerinin istilasına yardımcı olan bir Lmb proteini üreten bir virülans geni bulunmaktadır (Ragunathan ve ark. 2013).

4.6 Embriyo Transferi ve Kalitesi

Embriyoların anne rahmine transferi olan tüp bebek işleminin son aşamasına geldik.

Embriyo (I veya II) derece olabileceğinden, embriyonun derecesi gebeliğin oluşmasında önemlidir.

Embriyo derece I, hücre sayısının günlük gelişim için yeterli olduğu ve bu hücrelerin eşit büyüklükte ve kalıntı içermemesi gerektiği anlamına gelir. Aksi takdirde bu özelliklerden biri karşılanmazsa fetüs, derece II olarak sınıflandırılır.

Kadınların yaşı ile kendisine transfer edilen embriyo sayısı arasında bir ilişki vardır. Kadın ne kadar yaşlıysa hamilelik şansı o kadar düşüktür. Bu nedenle hastanın yaşı, tıbbi geçmişi (çocuk sahibi olduysa, daha önce düşük yaptıysa veya daha önce tüp bebek deneyimi yaşadıysa) ve embriyonun derecesine (grade veya II) uygun yeterli sayıda embriyo transferi tercih edilir.

Çizelge 4.8, implante edilen embriyoların sayısı ile hastanın yaşı arasındaki ilişkiyi göstermektedir.

30-40 yaş aralığı grubundaki hastalarda implante edilen embriyo sayısının daha fazla olduğu görülmüştür. Bu grup için neredeyse 4 embriyo yerleştirme işlemi yapmış olmamıza rağmen, 20-30 yaş aralığı grubunda anne ve fetüs için de komplikasyonlara ve risklere yol açabilecek birden fazla embriyo ile gebelikten kaçınmak için 3 veya daha az embriyo transfer etmeye karar verdik.

Çizelge 4.8 Hastanın yaşı ve implante edilen embriyo sayısı

Yaş	Tek embriyo transferi	2 embriyo Transferi	3 embriyo Transferi	4 embriyo Transferi
20-30 yıl	...	1	10	...
30-40 yıl	1	4	16	8

4.7 Düşük ve Bakteriyel Vajinozis

Bu çalışmanın sonuçları sayesinde, daha önce düşük yapmış ve tüp bebek uygulanan tüm kadınların (8 vaka) BV'ye sahip olduğu bulunmuştur.

Çalışmamızda daha önce kürtaj geçirmiş kadınlarda vajinal inflamasyonun nedenini ise aşağıdaki şekilde saptanmıştır:

* Daha önce düşük yapmış üç olguda *Burkholderia cepatiea*'nın

* Daha önce düşük yapılmış iki vakada *Streptococcus agalactiae*

* Daha önce düşük yapılmış bir vakada *Enterococcus facealis*'in

* Daha önce düşük yapılmış iki vakada *Escherichia coli*'nin tespit edilmiştir.

Ancak bu sonuclarda bu bakteriler tespit edilmiş olsada tek etkenin bunlar olduğunu söyleyemeyiz çünkü hastaya ait diğer verilerde incelenmelidir.

Bununla birlikte Işık *et al.* (2016), bakteriyel vajinozis un gebelik sırasında tekrarlayan düşüklere katkıda bulunabileceği bildirilmiştir (Çizelge 4.9).

Çizelge 4.9 Düşük ile bakteriyel vajinoz arasındaki ilişki

Yaş	**İlk önceki düşük / 8**	**İkinci önceki düşük/8**	**> 2 önceki düşük/8**
20-30 yıl	1	1	---
30-40 yıl	3	2	1

4.8 Polikistik Over Sendromu ve Yaş

Bazı kadınların yaşadığı polikistik over sendromu, kısırlığa veya hamileliğin gecikmesine yol açtığı veya kalitesiz olgunlaşmamış yumurtaların üretilmesine ve dolayısıyla zayıf bir fetüs oluşumuna yol açabileceği için hamilelik şansı zayıftır. Anti Müllerian Hormon (AMH) testi, yumurtalık rezervinin bir göstergesi olarak ve polikistik over sendromunu saptamak için kullanılmaktadır. AMH düzeylerinde yaşamın ilk gününden itibaren kademeli bir artış gözlenirken, maksimum düzeyler 25 yaş civarındaki kadınlarda gözlenir. Yetişkin kadınlarda, primordial folikül agregasyonu yaşla birlikte azaldıkça ve menopozda saptanamaz hale geldiğinden AMH seviyeleri yavaş yavaş düşer.

Anti-Müllerian Hormon (AMH) testi, yumurtalık rezervinin ve PKOS'un saptanması için bir göstergedir.

Doğumun ilk gününden itibaren AMH düzeylerinde kademeli bir artış olduğu gözlemlenmiştir. Hormonun maksimum seviyelerinin kadınlarda yaklaşık 25 yaşında olduğu kaydedildi. AMH seviyeleri yaşla birlikte kademeli olarak düşer ve menopozda saptanamaz hale gelir.

Polikistik over sendromu (PKO), bazı kadınların muzdarip olabileceği, kısırlığa veya gebeliğin gecikmesine yol açan veya düşük kaliteli olgunlaşmamış yumurtaların üretilmesine ve dolayısıyla zayıf bir fetüsün üretilmesine yol açabilen bir sendromdur.

Çizelge 4.11'de tüp bebek uygulanan kadınlarda AMH hormonu düzeyleribulunmkatadır. Özellikle yaşları 25-35 arasında değişen, yumurta sayısı ve türü iyi olduğu için vakaların çoğunun normal AMH düzeyine (1,5-4,0 ng/mL) sahip olanlar olduğu ortaya çıktı. Yani bu değere göre yüksek gebelik sonuçlarına sahiptirler.

AMH yaşla birlikte kademeli olarak azalmaktadır (ancak Polikistik over sendromundan mustarip kadınlar için bazı durumlar hariç).

Çizelge 4.10 Örnek alınan hastaların yaşlarına göre Anti Mullerian Hormon (AMH) düzeyleri

Yaş	**Çok düşük <0,5 ng/Ll**	**Düşük 0,5-1,0 ng/mL**	**Düşük normal 1,0-1,5 ng/mL**	**Normal 1,5- 4,0 ng/mL**	**PCO >4,0 ng/mL**
20-30 yıl	1	---	---	6	4
30-40 yıl	---	4	5	15	6

Çizelge 4.11'in sonuçları, IVF ameliyatı geçiren kadınların yaşlarına göre Anti-Mullerian hormon düzeyini göstermektedir. Buna göre 30-40 yaş arasındaki bireylerde bu hormon normal seviyede tespit edilmiştir.

4.10 Bakteriyel Vajinoz ve Gebelik Sonuçları

Bu çalışmada bakteriyel vajinozu olan hastaları takip ederek Tüp bebek tedavisi ile gebelik durumları arasındaki ilişki incelendi.

Tablo 12.4 bakteriyel vajinoz vakalarında gebelikte başarılı olan ve başarısız olan gruplar arasında hemen hemen eşit oranlar olduğunu göstermektedir, bu nedenle de bakteriyel

vajinozun tüp bebek yoluyla gebeliğe etkisi yoktur denenbilir, ancak düşük oluşumunu veya erken doğum oluşumunu ve hamilelik sırasında fetüsün ölümünü etkileyebilir.

Çizelge 4.11 Bakteriyel vajinozun gebelik üzerine etkisi

Yaş	**Bakteriyel vajinoz örnekleri**	**Gebelik pozitif**	**Gebelik negatif**
20-30 yıl	11	7	4
30-40 yıl	29	16	13

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yaptığımız ayrıntılı çalışma sonrasında, kadınların kısırlığını ve buna bağlı olarak tüp bebek sürecinin başarısını etkileyen birçok faktörün olduğunu tespit ettik. Özellikle yaş önemli bir faktör olarak karşımıza çıktı. Yaş ilerledikçe gebelik şansında azalmak, ANH hormonu seviyesinde ve yumurta kalitesi ile implante edilen embriyoların sayısı ve kalitesinde düşüş gözlemlenmiştir. Ayrıca infertiliteden muzdarip tüm kadınların bakteriyel vajinoza yakalanması infertiliteyi etkileyen başka bir faktörtür.

Alınan örneklerde mantar ve *Candida albicans* 'a ek olarak vajinayı enfekte edebilecek geniş bir bakteri grubu olduğu ortaya çıkmıştır. Bu durum vajinada bakteri çeşitliliği mevcut olduğunu doğrulamıştır. Vajinada bulunan bakterilerin çoğu virülans genleri içerir ve bu genler vajinayı enfekte edebilir ve ayrıca antibiyotiklere karşı bakteriyel direnç gösterebilir. Enfeksiyonun nedeninin yanlış duş alma ya da vajinadaki normal florayı öldüren ve bu nedenle bakteriyel vajinozis insidansını artıran kimyasallar içeren sabun kullanımı ve çoklu cinsel ilişki ve kişisel hijyene dikkat etmeme olduğu görülmektedir. Tüp bebek uygulanan kadınlara vajinal sürüntü teşhisi konulduğunda, bazı vajinal enfeksiyonların kontamine tıbbi aletlerden veya sterilizasyon yapılmadan, transvajinal ultrason ile kullanılan jelin kontaminasyonundan bulaştığı tespit edilmiştir.

Burkholderia cepacia bakterileri ile yüksek oranda enfeksiyonun kadınlarda ortaya çıktığı, ancak ameliyathanenin ve tıbbi aletlerin sterilizasyonunda değişiklik yaptıktan sonra bakterilerin kaybolduğu ve tekrar ortaya çıkmadığı tespit edilmiştir. Bu durum, *Burkholderia cepacia* bakterilerin hastanelerde bulunması ve hastalara bulaşması ile enfeksiyona neden olmasını açıklamaktadır.

En önemli sonuç, bakteriyel vajinozun normal gebelik sırasında infertiliteyi doğrudan etkilediğidir. Ancak IVF işlemini yaptıklarında hamile kalabilen bakteriyel vajinozisli birkaç kadın olduğu için IVF gebelik sonuçlarını etkilememektedir. Bununla birlikte, BV'li tüm kadınların daha önce tekrarlayan düşükleri olduğundan, BV hamileliğin devamını, erken düşük yapmayı veya fetal ölümü riskini arttırabilir.

Tüm bu elde ettiğimiz veriler doğrultusunda, eğer çiftlerin gebe kalma yaşı geciktiyse bu gibi durmlarda tüp bebek tedavisine başlamaları, kontamine veya steril olmayan materyalleri kullanmamaları, çoklu cinsel ilişkiden uzak durmaları, kişisel hijyene dikkat etmeleri ve vajinadaki normal floranın dengesini bozan kimyasallar sabun veya hijyen jellerini kullanılmamaları, aşırı antibiyotik kullanımından uzak durmaları önerilmektedir. Bu gibi durumlar dengesiz bir mikrop ortamı yaratıp Ph, kaşıntı, kuruluk veya kötü kokulu gibi vajinanın doğal koşullarında değişikliğe yol açar. IVF tedavisi sırasında laboratuarda yumurta veya embriyo ile uğraşmada hız ve doğruluk, ayrıca uygun ısı, nem, CO_2 gazının sağlanması ile tüm hastanelerde tıbbi aletlerin sterilizasyonu önem arz etmektedir.

KAYNAKLAR

Aboulghar, M. A., Mansour, R. T., Serour, G. I., Sattar, M. A. and Amin, Y. M. 1996. Intracytoplasmic sperm injection and conventional in vitro fertilization for sibling oocytes in cases of unexplained infertility and borderline semen. Journal of Assisted Reproduction and Genetics, 13(1): 38-42.

Alikani, M., Cohen, J., Tomkin, G., Garrisi, G. J., Mack, C. and Scott, R. T. 1999. Human embryo fragmentation in vitro and its implications for pregnancy and implantation. Fertility and Sterility, 71(5): 836-842.

Amsel, R., Totten, P. A., Spiegel, C. A., Chen, K. C., Eschenbach, D. and Holmes, K. K. 1983. Nonspecific vaginitis: diagnostic criteria and microbial and epidemiologic associations. The American Journal of Medicine, 74(1): 14-22.

Barratt, C. L., Björndahl, L., De Jonge, C. J., Lamb, D. J., Osorio Martini, F., McLachlan, R., & Tournaye, H. 2017. The diagnosis of male infertility: an analysis of the evidence to support the development of global WHO guidance—challenges and future research opportunities. Human Reproduction Update, 23(6): 660-680.

Benaglia, L., Busnelli, A., Biancardi, R., Vegetti, W., Reschini, M., Vercellini, P. and Somigliana, E. 2018. Oocyte retrieval difficulties in women with ovarian endometriomas. Reproductive BioMedicine Online, 37(1): 77-84.

Blaser, M. 2011. Stop the killing of beneficial bacteria. Nature, 476(7361): 393-394.

Bradshaw, C. S. and Brotman, R. M. 2015. Making inroads into improving treatment of bacterial vaginosis–striving for long-term cure. BMC Infectious Diseases, 15(1): 1-12.

Bradshaw, C. S., Morton, A. N., Hocking, J., Garland, S. M., Morris, M. B., Moss, L. M. and Fairley, C. K. 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): 1478-1486.

Castro, J., Henriques, A., Machado, A., Henriques, M., Jefferson, K. K. and Cerca, N. 2013. Reciprocal interference between Lactobacillus spp. and Gardnerella vaginalis on initial adherence to epithelial cells. International Journal of Medical Sciences, 10(9): 1193.

Chen, X., Lu, Y., Chen, T. and Li, R. 2021. The female vaginal microbiome in health and bacterial vaginosis. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 271.

Choe, J., Archer, J. S. and Shanks, A. L. 2020. In vitro fertilization. Europe PMC, 39(96): 37-59.

Dağ, Z. Ö. and Dilbaz, B. 2015. Impact of obesity on infertility in women. Journal of the Turkish German Gynecological Association, 16(2): 111.

David, B. C., Weiner, Z. and Solt, I. 2019. The possibility of transmitting infections with vaginal ultrasound probes: why we cannot meet the guidelines. Israel Medical Association Journal, 21: 45-49.

De Moura, B. R., Gurgel, M. C., Machado, S. P., Marques, P. A., Rolim, J. R., de Lima, M. C. and Salgueiro, L. L. 2017. Low concentration of hyaluronidase for oocyte denudation can improve fertilization rates and embryo quality. JBRA Assisted Reproduction, 21(1): 27.

Diard, M. and Hardt, W. D. 2017. Evolution of bacterial virulence. FEMS Microbiology Reviews, 41(5): 679-697.

Dumoulin, J. C., Coonen, E., Bras, M., Bergers-Janssen, J. M., Ignoul-Vanvuchelen, R. C., van Wissen, L. C. and Evers, J. L. 2001. Embryo development and chromosomal anomalies after ICSI: effect of the injection procedure. Human Reproduction, 16(2): 306-312.

Ebner, T., Moser, M. and Tews, G. 2006. Is oocyte morphology prognostic of embryo developmental potential after ICSI?. Reproductive Biomedicine Online, 12(4): 507-512.

Fethers, K. A., Fairley, C. K., Hocking, J. S., Gurrin, L. C. and Bradshaw, C. S. 2008. Sexual risk factors and bacterial vaginosis: a systematic review and meta-analysis. Clinical Infectious Diseases, 47(11): 1426-1435.

Fjeld, H. and Raknes, G. 2014. Er det virkelig farlig å kombinere metronidazol og alkohol?. Tidsskrift for Den Norske Legeforening, 14(1).

Glazer, C. H., Bonde, J. P., Eisenberg, M. L., Giwercman, A., Hærvig, K. K., Rimborg, S. and Bräuner, E. V. 2017. Male infertility and risk of nonmalignant chronic diseases: a systematic review of the epidemiological evidence. In Seminars in Reproductive Medicine. Thieme Medical Publishers, 35(3): 282-290.

Haahr, T., Elbaek, H. O., Laursen, R. J., Alsbjerg, B., Jensen, J. S. and Humaidan, P. 2017. Treatment of abnormal vaginal microbiota before frozen embryo transfer: Case-report and minireview to discuss the longitudinal treatment efficacy of oral clindamycin. Frontiers in Physiology, 8: 415.

Haahr, T., Humaidan, P., Elbaek, H. O., Alsbjerg, B., Laursen, R. J., Rygaard, K. and Jensen, J. S. 2019. Vaginal microbiota and in vitro fertilization outcomes: development of a simple diagnostic tool to predict patients at risk of a poor reproductive outcome. The Journal of Infectious Diseases, 219(11): 1809-1817.

Işik, G., Demirezen, Ş., Dönmez, H. G. and Beksaç, M. S. 2016. Bacterial vaginosis in association with spontaneous abortion and recurrent pregnancy losses. Journal of Cytology/Indian Academy of Cytologists, 33(3): 135.

Jones, A. 2019. Bacterial vaginosis: a review of treatment, recurrence, and disparities. The Journal for Nurse Practitioners, 15(6): 420-423.

Joris, H., Nagy, Z., Van de Velde, H., De Vos, A. and Van Steirteghem, A. 1998. Intracytoplasmic sperm injection: laboratory set-up and injection procedure. Human Reproduction, 13(1): 76-86.

Jungwirth, A., Giwercman, A., Tournaye, H., Diemer, T., Kopa, Z., Dohle, G. and EAU Working Group on Male Infertility. 2012. European Association of Urology guidelines on Male Infertility: the 2012 update. European Urology, 62(2): 324-332.

Kairys, N. and Garg, M. 2017. Bacterial vaginosis. Europe PMC, 17(1): 1-9.

Kaur, K. and Prabha, V. 2014. Spermagglutinating Escherichia coli and its role in infertility: in vivo study. Microbial Pathogenesis, 69: 33-38.

Keltz, M. D., Skorupski, J. C., Bradley, K. and Stein, D. 2006. Predictors of embryo fragmentation and outcome after fragment removal in in vitro fertilization. Fertility and Sterility, 86(2): 321-324.

Liversedge, N. H., Turner, A., Horner, P. J., Keay, S. D., Jenkins, J. M. and Hull, M. G. R. 1999. The influence of bacterial vaginosis on in-vitro fertilization and embryo implantation during assisted reproduction treatment. Human Reproduction, 14(9): 2411-2415.

Mahadevan, M. M. and Trounson, A. O. 1985. Removal of the cumulus oophorus from the human oocyte for in vitro fertilization. Fertility and Sterility, 43(2): 263-267.

Mangot-Bertrand, J., Fenollar, F., Bretelle, F., Gamerre, M., Raoult, D. and Courbiere, B. 2013. Molecular diagnosis of bacterial vaginosis: impact on IVF outcome. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases, 32(4): 535-541.

Massar, A. M. A. L., Al-Khafaji, J. K. and Al-Shibly, I. K. 2017. Genotypic and phenotypic characterization of some virulence genes of Klebsiella pneumoniae in Hilla City. World Journal of Pharmaceutical Research, 6(8): 180-192.

Mills, B. B. 2017. Vaginitis: beyond the basics. Obstetrics and Gynecology Clinics, 44(2): 159-177.

Nasioudis, D., Linhares, I. M., Ledger, W. J. and Witkin, S. S. 2017. Bacterial vaginosis: a critical analysis of current knowledge. BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology, 124(1): 61-69.

Neyens, S., De Neubourg, D., Peeraer, K., De Jaegher, N., Spiessens, C., Debrock, S. and D'Hooghe, T. M. 2016. Is there a correlation between the number of follicular flushings, oocyte/embryo quality and pregnancy rate in assisted reproductive technology cycles? Results from a prospective study. Gynecologic and Obstetric Investigation, 81(1): 34-40.

Nisha, K., Antony, B. and Udayalaxmi, J. 2019. Comparative analysis of virulence factors & biotypes of Gardnerella vaginalis isolated from the genital tract of women with & without bacterial vaginosis. The Indian Journal of Medical Research, 149(1): 57.

Nugent, R. P., Krohn, M. A. and Hillier, S. L. 1991. Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of gram stain interpretation. Journal of Clinical Microbiology, 29(2): 297-301.

Nyhsen, C. M., Humphreys, H., Nicolau, C., Mostbeck, G. and Claudon, M. 2016. Infection prevention and ultrasound probe decontamination practices in Europe: a survey of the European Society of Radiology. Insights into Imaging, 7(6): 841-847.

Obata-Yasuoka, M., Ba-Thein, W., Tsukamoto, T., Yoshikawa, H. and Hayashi, H. 2002. Vaginal Escherichia coli share common virulence factor profiles, serotypes and phylogeny with other extraintestinal E. coli. Microbiology, 148(9): 2745-2752.

Pelinck, M. J., Vogel, N. E. A., Arts, E. G. J. M., Simons, A. H. M., Heineman, M. J. and Hoek, A. 2007. Cumulative pregnancy rates after a maximum of nine cycles of modified natural cycle IVF and analysis of patient drop-out: a cohort study. Human reproduction, 22(9): 2463-2470.

Petrina, M. A., Cosentino, L. A., Rabe, L. K. and Hillier, S. L. 2017. Susceptibility of bacterial vaginosis (BV)-associated bacteria to secnidazole compared to metronidazole, tinidazole and clindamycin. Anaerobe, 47: 115-119.

Polley, S., Seal, S., Mahapa, A., Jana, B., Biswas, A., Mandal, S. and Sau, S. 2017. Identification and characterization of a cyclosporin binding cyclophilin from Staphylococcus aureus Newman. Bioinformation, 13(3): 78.

Ragunathan, P., Sridaran, D., Weigel, A., Shabayek, S., Spellerberg, B. and Ponnuraj, K. 2013. Metal binding is critical for the folding and function of laminin binding protein, Lmb of Streptococcus agalactiae. PloS One, 8(6): e67517.

Raudonis, V., Paulauskaite-Taraseviciene, A., Sutiene, K. and Jonaitis, D. 2019. Towards the automation of early-stage human embryo development detection. Biomedical Engineering Online, 18(1): 1-20.

Ravel, J., Moreno, I. and Simón, C. 2021. Bacterial vaginosis and its association with infertility, endometritis, and pelvic inflammatory disease. American Journal of Obstetrics and Gynecology, 224(3): 251-257.

Roupa, Z., Polikandrioti, M., Sotiropoulou, P., Faros, E., Koulouri, A., Wozniak, G. and Gourni, M. 2009. Causes of infertility in women at reproductive age. Health Science Journal. 3(2): 80-87.

Shi, L., Wang, H. and Lu, Z. 2016. Staphylococcal infection and infertility. Genital Infections and Infertility; Darwish, AM, Ed.; InTech: Rijeka, Croatia, 159-177.

Simopoulou, M., Giannelou, P., Bakas, P., Gkoles, L., Kalampokas, T., Pantos, K. and Koutsilieris, M. 2016. Making ICSI safer and more effective: a review of the human oocyte and ICSI practice. In Vivo, 30(4): 387-400.

Sparks, A. 2000. An atlas of human gametes and conceptuses: an illustrated reference for assisted reproductive technology. The Journal of Urology, 3(164): 910-911.

Sunderam, S., Kissin, D. M., Crawford, S. B., Folger, S. G., Boulet, S. L., Warner, L. and Barfield, W. D. 2018. Assisted reproductive technology surveillance—United States, 2015. MMWR Surveillance Summaries, 67(3): 1.

Swidsinski, A., Mendling, W., Loening-Baucke, V., Ladhoff, A., Swidsinski, S., Hale, L. P. and Lochs, H. 2005. Adherent biofilms in bacterial vaginosis. Obstetrics & Gynecology, 106(5 Part 1): 1013-1023.

Thonneau, P., Marchand, S., Tallec, A., Ferial, M. L., Ducot, B., Lansac, J. and Spira, A. 1991. Incidence and main causes of infertility in a resident population (1 850 000) of three French regions (1988–1989). Human Reproduction, 6(6): 811-816.

Timberlake, K. S., Foley, K. L., Hurst, B. S., Matthews, M. L., Usadi, R. S. and Marshburn, P. B. 2013. Association of blood type and patient characteristics with ovarian reserve. Fertility and Sterility, 100(6): 1735-1739.

Ubaldi, F. M., Cimadomo, D., Vaiarelli, A., Fabozzi, G., Venturella, R., Maggiulli, R. and Rienzi, L. 2019. Advanced maternal age in IVF: still a challenge? The present and the future of its treatment. Frontiers in Endocrinology, 10: 94.

Van Oostrum, N., De Sutter, P., Meys, J. and Verstraelen, H. 2013. Risks associated with bacterial vaginosis in infertility patients: a systematic review and meta-analysis. Human Reproduction, 28(7): 1809-1815.

Wang, Y., Zhang, M., Shi, H., Yi, S., Li, Q., Su, Y. and Sun, Y. P. 2021. Causes and Effects of Oocyte Retrieval Difficulties: A Retrospective Study of 10,624 Cycles. Frontiers in Endocrinology, 12.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı ve Soyadı : Jihan Hussein Ahmed AHMED

Eğitim

Yüksek Lisans	Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı	2020-2023
Lisans	Al- Mustansiriyah Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü	2006-2010