

**İNSAN SERVİKO VAJİNAL EPİTEL HÜCRE- BAKTERİ
İLİŞKİSİNİN İŞİK VE ELEKTRON MİKROSKOBİK
İNCELENMESİ**

**LIGHT AND ELECTRON MICROSCOPIC OBSERVATION
OF BACTERIA AND HUMAN SERVICOVAGINAL
EPITHELIAL CELL INTERACTIONS**

AYDAN MUTLU

Prof. Dr. ŞAYESTE DEMİREZEN

Tez Danışmanı

Hacettepe Üniversitesi

Lisans Eğitim – Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin

Biyoloji Anabilim Dalı İçin Öngördüğü

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Olarak Hazırlanmıştır.

2013

Çok sevdiğim aileme...

AYDAN MUTLU' nun hazırladığı "**İNSAN SERVİKOVAJİNAL EPİTEL HÜCRE BAKTERİ İLİŞKİSİNİN IŞIK VE ELEKTRON MİKROSKOPİK İNCELENMESİ**" adlı bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından **GENEL BİYOLOJİ ANABİLİM DALI'** nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Başkan

Prof. Dr. M. Sinan BEKSAÇ

Danışman

Prof. Dr. Şayeste DEMİREZEN

Üye

Prof. Dr. Nevin KESKİN

Üye

Prof. Dr. Nursel GÜL

Üye

Doç. Dr. Pergin ATİLLA

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak onaylanmıştır.

.....
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK

Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu ,
- başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

17/ 05 /2013

Aydan MUTLU

ÖZET

İNSAN SERVİKOVAJİNAL EPİTEL HÜCRE- BAKTERİ İLİŞKİSİNİN IŞIK VE ELEKTRON MİKROSKOBİK İNCELENMESİ

AYDAN MUTLU

Yüksek Lisans, Biyoloji Bölümü

Tez Danışmanı: Prof. Dr. ŞAYESTE DEMİREZEN

Mayıs 2013, 69 sayfa

Bakteriyel vajinozis fertil dönemde en sık görülen vajinit çeşitlerinden biridir ve başta *Gardnerella vaginalis* olmak üzere çeşitli anaerobik ve fakültatif anaerobik bakteriler tarafından oluşturulmaktadır. Bu enfeksiyonun en önemli tanı kriteri ise clue cell adı verilen üzeri kok ve kokobasiller ile kaplı skuamoz epitel hücreleridir. Çalışmamızın amacı ise clue cell tipi hücrelerde, bakteri epitel ilişkisini daha iyi anlamak, bakterilerin epitel hücrelere nasıl adezyon yaptığını gözlemlemek ve adezyon sonucu bakterilerin epitel hücre içine girip girmediklerini araştırmaktadır. Bu kapsamda çalışmamızda 200 hastadan servikovajinal örnek alınmış ve bu hastalar içinde Bakteriyel vajinozis (BV) enfeksiyonu açısından pozitif olan 7 (%3.5) hasta, çalışma grubu olarak seçilmiştir. Bakteriyel vajinozis tanısı, Papanicolaou boyama yöntemine göre boyanmış yaymalarda sitolojik tanı kriterleri göz önüne alınarak verilmiştir ve çalışma grubunda yer alan tüm hastalarda (%100) clue cell tipi hücre ve serbest kok - kokobasil gözlenirken, laktobasil görülmemiş ve 2'sinde (%28.57) nadir polimorfo nükleer lökosit görülmüştür. Ayrıca bu sonuçlar SPSS paket programı kullanılarak analiz edilmiş ve clue cell varlığı ile serbest kok- kokobasil varlığı, laktobasil ile polimorfonükleer lökosit yokluğu arasındaki ilişki anlamlı bulunmuştur ($p<0.005$). Işık mikroskobu incelemelerinde clue cell tipi hücrelerin ve serbest kok - kokobasillerin eritrositlerle yakın ilişkide olduğu görülmüştür. Bunun yanı sıra BV pozitif hastaların 1'inde (%14.18) ASCUS (Atypic Squamous Cell Undetermined Significance) tipi hücreler, 1'inde (%14.18) *Trichomonas vaginalis* ve 2'sinde (%28.57) metaplazik değişiklikler gösteren hücre grupları görülmüştür. BV pozitif olan hastalardan birinin %2'lik glütaldehit içine alınmış örneği elektron mikroskobu yöntemine uygun olarak takip edilmiş ve transmission elektron mikroskobunda incelenmiştir. Bu inceleme sırasında epitel hücrelerin çok bol şekilde bakterilerle çevrili olduğu ve bu bakterilerden bazılarının pililer içerdiği gözlenmiştir. Bakterilerin bir araya geldiği bölgelerde fibriler yapıda biyofilm materyali sentezlendiği gözlenmiştir. Ayrıca epitel hücrelerin, zara doğru olan bakterilere aktin filamentleri yardımıyla sitoplazmik çıkıntılar uzattığı gözlenmiştir. Aktin filamentlerinin sitoplazmada

serbest halde bulunduğu fakat bakterilerle kaynaşma olduğu yerde bakteriye dik konumlandığı gösterilmiştir. Bunun yanı sıra epitel hücre sitoplazmasında fagosit edilmiş bakteri materyali bulunduğu ve bakteri ile kaynaşmış epitel zarlarında liziz alanların olduğu görölmüştür.

Anahtar Kelimeler: servikovajinal yayma, elektron mikroskobi, clue cell, adezyon, biyofilm

ABSTRACT

LIGHT AND ELECTRON MICROSCOPIC OBSERVATION OF BACTERIA AND HUMAN CERVICOVAGINAL EPITHELIAL CELL INTERACTIONS

AYDAN MUTLU

Master of Science, Department of Biology

Supervisor: Prof. Dr. ŞAYESTE DEMİREZEN

May 2013, 69 Pages

Bacterial vaginosis (BV) is the most common vaginit type in fertile age. *Gardnerella. vaginalis* and various anaerobic and facultative anaerobic bacteria cause this vaginit. In this infection, clue cell is the most important cytological finding. Clue cell is a squamous epithelial cell which is covered by cocci and coccibacilli. Our aim is to determine how bacteria adhere to epithelial cell and whether invade the cytoplasm or not in clue cell. In this study, cervicovaginal smears were obtained from 200 patients and BV positive 7 (%3.5) patients were chosen for study group. BV was diagnosed in Papanicolaou stained smears by using cytologic criterias. In study group, every patient (%100) had clue cell and free cocci however non of them (%0) had lactobacilli and two of them (%28.57) had rare polimorfo nuclear leukocytes (PMNLs). By statistical analysis, there was a significant relation between BV and presence of clue cell and free cocci. It is found that absence of lactobacilli and PMNLs were also associated BV ($p<0.05$). In light microscopic examination, it was observed that erythrocytes adhere clue cells and free cocci. Besides in study group ($n=7$), ASCUS (Atypic Squamous Cell Undetermined Significance), *Trichomonas vaginalis*, metaplastic cells were found in 14.18 % (1/7), 14.18% (1/7) and 28.57% (2/7) respectively. All cervicovaginal samples were fixed in 2% glutaraldehyde and one of the BV positive patients' sample was prossesed due to electron microscopic requires. In electron microscopic examination, it was seen that epithelial cells are covered by abundant bacteria and some of them have pili. Furthermore, bacterial biofilm was seen around bacteria. Also it was observed that epithelial cell have membrane projections via actin filaments towards to bacteria. It is recognized that actin filaments are rearraged in adhesion zone. By the way it was observed that in clue cell there are some phagocytic vacuole which contains bacterial material and in adhesion zone epithelial cell membrane was lysised.

Key Words: cervicovaginal smears, electron microscopy, clue cell, adhesion, biofilm

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde büyük emeği olan ve desteğini hiç bir zaman esirgemeyen ve çalışmamızın en iyi şekilde yürümesi için yol gösteren sayın tez danışmanım Prof. Dr. Şayeste DEMİREZEN'e içtenlikle teşekkür ederim.

Çalışmanın yürütülmesindeki büyük katkılarından ve servikovajinal örneklerin toplanmasına yardımından dolayı Sayın Prof. Dr. M. Sinan BEKSAÇ' a, elektron mikroskopik çalışmanın gerçekleştirilmesi için gerekli donanım ve olanakları sağlayan Sayın Prof. Dr. A. Nur ÇAKAR' a ve Sayın Doç Dr. Pergin ATİLLA' ya çok teşekkür ederim.

Bu çalışma süresince her zaman bana destek olan, yardımını esirgemeyen ve birlikte çalışmaktan her zaman keyif aldığım değerli arkadaşlarım Ayşegül Yücel'e, Funda Gerçeker'e, Merve Özcan'a ve değerli hocalarım Hanife Dönmez ve Remma Gülsoy'a çok teşekkür ederim.

Ayrıca bu süreç boyunca büyük bir özveri ile beni destekleyen ve en büyük yardımcılarımdan biri olan sevgili Barış Can Ağca' ya teşekkür ederim.

Ve her şeyden önemlisi bu uzun yolda en başından beri benimle olan, bu noktaya gelmemi sağlayan ve maddi manevi hiçbir yardımı esirgemeyen canım aileme çok teşekkür ederim...

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
KABUL VE ONAY SAYFASI	i
ETİK.....	ii
ÖZET.....	iii
ABSTRACT.....	iv
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xv
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xvi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Epitel Hücre- Bakteri İlişkisi.....	3
2.2. Bakteri Hücre Duvarı.....	3
2.2.1. Gram negatif Bakteri Hücre Duvarı	3
2.2.2. Gram pozitif Bakteri Hücre Duvarı	6
2.3. Epitel Hücre Adezyon Molekülleri	7
2.3.1. Kaderinler	7
2.3.2. Toll Benzeri Reseptör.....	10
2.3.3. Karbohidratlar	11
2.4. Bakteri Adezyon Molekülleri	12
2.4.1. Lipopolisakkarit.....	12
2.4.2. Teikoik Asit	13
2.4.3. Basit Pili.....	14
2.4.4. Biyofilm	15
2.5. Adezyonda Görev Alan Bakteriyel Enzimler	16
2.5.1. Sialidazlar.....	17

2.5.2. Glikosidazlar.....	17
2.5.3. Proteazlar	17
2.5.4. Musinaz.....	17
2.6. Bakteriyel vajinozis Tanımı ve Tarihçesi	17
2.7. Bakteriyel vajinozise Neden Olan Organizmalar.....	19
2.7.1. <i>Gardnerella vaginalis</i>	19
2.7.2. Mobiluncus Türleri	20
2.7.3. Bacteroides Türleri	21
2.7.4. <i>Mycoplasma hominis</i> ve <i>Ureaplasma urealyticum</i>	22
2.7.5. Prevotella türleri.....	22
2.7.6. Porphyromonas Türleri.....	23
2.7.7. Peptostreptococcus Türleri.....	23
2.7.8. <i>Atopobium vaginae</i>	23
2.8. BV'nin Mikroskopik ve Klinik Tanı Kriterleri	24
2.8.1. Mikroskopik (Sitolojik) Tanı Kriterleri.....	24
2.8.1.1. Clue Cell Hücrelerinin Görülmesi.....	24
2.8.1.2. Serbest Kok ve Kokobasillerin Görülmesi.....	24
2.8.1.3. Polimorf Nükleer Lökosit (PMNL) Görülmemesi.....	24
2.8.1.4. Laktobasillerin Ortamda Bulunmaması.....	25
2.8.2. Klinik Tanı Kriterleri.....	25
2.8.2.1. Balık Kokusu Tarzında Akıntı ve Akıntının Tipi.....	26
2.8.2.2. Değişmiş Vajinal pH Değeri.....	26
2.9. BV Tanı Metodları.....	26
2.9.1. Sitolojik Metodlar.....	26
2.9.1.1. Papanicolaou Boyama Metodu.....	26
2.9.1.2. Taze İnceleme.....	26
2.9.2. Mikrobiyolojik Metodlar.....	27

2.9.2.1. Gram Boyama Metodu.....	27
2.9.2.2. BVBlue Test Metodu.....	27
2.9.2.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) Metodu.....	27
2.9.2.4. <i>Gardnerella vaginalis</i> Kültür Metodu.....	28
2.9.2.5. Gaz- Sıvı Kromotografi Metodu.....	28
2.10. Bakteriyel Vajinozis Tedavi Yöntemleri.....	29
3. YÖNTEM VE GEREÇLER.....	30
3.1. Örneklerin alınması.....	30
3.2. pH ölçümü.....	30
3.4. Örneklerin Sitolojik Yönteme Göre Hazırlanması.....	30
3.5. Örneklerin Elektron Mikroskopik (EM) Yönteme Göre Hazırlanması	31
4. SONUÇLAR.....	32
4.1. Servikovajinal Örneklerin Sitolojik Olarak İncelenmesi ve İstatiksel Olarak Değerlendirilmesi.....	32
4.2. “Clue Cell” Tipi Hücrenin Elektron Mikroskopik Yöntemle İncelenmesi ve Değerlendirilmesi.....	45
5. TARTIŞMA.....	51
6. KAYNAKLAR.....	59
7. ÖZGEÇMİŞ.....	69

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 2.1. Peptidoglikan tabakanın kimyasal yapısı.....	4
Şekil 2.2. Gram negatif bakteri hücre zarı ve hücre duvarı yapısı.....	5
Şekil 2.3. Gram pozitif bakteri hücre zarı ve hücre duvarı yapısı.....	7
Şekil 2.4. Kaderin proteinin yapısı.....	9
Şekil 2.5: Toll Benzeri Reseptörün yapısının şematik gösterimi.....	11
Şekil 2.6: Lipopolisakkaritin kimyasal yapısı.....	12
Şekil 4.1: Üzerinde çok bol kokoid yapıda bakterilerin bulunduğu clue cell (cc) tipi hücre, clue cell hücre zarına yapışmış eritrosit (ok) ve makrofaj (kalın ok) görülmektedir (Papanicolaou x 1000).....	37
Şekil 4.2: Ortamda bol eritrosit bulunduğu, bu eritrositlerin bir kısmının hücre zarına yapıştığı (kalın ok), bazılarının ise zara doğru uzantılar yaptığı (ok) görülmektedir. Ayrıca hücre zarındaki düzensizlikler (kırmızı ok) dikkati çekmektedir (Papanicolaou x 1000).....	37
Şekil 4.3: Etrafı çok bol şekilde PMNL (ok) ile çevrili clue cell tipi hücre (Papanicolaou x 1000).....	38
Şekil 4.4: Sitoplazması bol vakuollü bir makrofaj görülmekte. Bazılarının içinde fagosit edilmiş maddeler (ok) görülmekte, etrafında ise çok bol PMNL (kalın ok) bulunmaktadır (Papanicolaou x 1000).....	38
Şekil 4.5: Laktobasillerle kaplı false clue cell (FC) hücresi ve metaplazik hücreler (M) (Papanicolaou x 1000).....	39
Şekil 4.6: BV (+) olan bir hastada clue cell tipi hücreler (ok başı) ve zeminde sıvama bollukta serbest koklar (kalın ok) ve serbest koklara yapışmış eritrositler (ok) (Papanicolaou x 40).....	39
Şekil 4.7: BV (+) olan hastada ASCUS değişiklikleri gösteren hücreler (ok). Çekirdeklerdeki hafif hiperkromazi ve büyüme dikkati çekmekte. Kalın okla	

gösterilen eritrositin bakteriler ile çevrili olduğu görülmektedir (Papanicolaou x 1000).....	40
Şekil 4.8: HPV (+) BV (-) olan bir hastada çekirdekler ASCUS (hiperkromatizm ve çekirdek büyümesi) sitoplazma koilostatik özellikler göstermektedir (ok) (Papanicolaou x 1000).....	40
Şekil 4.9: BV (+) hastaya ait yaymada görülen üzerinde kok ve kokobasil bulunan epitel hüresine (E) yapışmış <i>Trichomonas vaginalis</i> (ok) (Papanicolaou x 1000).....	41
Şekil 4.10: Epitel hücre (E) zarına yapışmış kandidal pseudohifler (kalın ok) ve blastosporlar. Blatosporların bulunduğu bölgedeki septalar dikkati çekmekte (ok) (Papanicolaou x 1000).....	41
Şekil 4.11: Fungal enfeksiyon tanısı almış bir hastaya ait yaymadaki sitoplazmik polimorfizm gösteren eozinofilik bir hücre görülmektedir (Papanicolaou x 1000).....	42
Şekil 4.12: Metaplazik değişiklikler gösteren hücre sitoplazmalarında intrasitoplazmik inkülüzyon cisimcikleri (ok) görülmektedir (Papanicolaou x 1000).....	42
Şekil 4.13: AGC tanısı verilmiş hastaya ait yaymada atipik endometriyal hücre grubu görülmektedir. Hücrelerin çekirdeklerindeki büyüme ve zarlarındaki düzensizlik (kırmızı ok) dikkati çekmekte (Papanicolaou x 1000).....	43
Şekil 4.14: AGC tanısı verilmiş bir hastaya ait yaymada sitoplazması olmayan, çıplak ve büyük atipik bir çekirdek görülmektedir (Papanicalou x1000).....	43
Şekil 4.15: Over kanseri teşhisi konmuş bir hastaya ait yaymada görülen malignant özellikteki endoservikal adenokanser hücreleri görülmektedir. Bu hücrelerdeki çekirdeklerin (beyaz ok) ileri derecede büyümüş ve hiperkromatik oluşu, çekirdekçiklerinin (kalın beyaz ok) de büyümüş ve sayıca artmış olması dikkati çekmektedir (Papanicalou x1000).....	44

Şekil 4.16: Çit görünümündeki normal silli (ok) endoservikal hücreler ve çevresinde spermeler görülmektedir (Papanicolaou x 1000).....	44
Şekil 4.17: Sitoplazmik uzantılarıyla (ok) birbirini sıkıca sarmış clue cell tipi hücreler ve normal epitel hücreleri (Uranil asetat-Kurşun Sitrat x3000).....	46
Şekil 4.18: Clue cell tipi hücelere ait sitoplazma uzantıları (ok) normal epitel hücreleri (Uranil asetat-Kurşun Sitrat X4000).....	46
Şekil 4.19: Clue cell tipi hücreye ait sitoplazma ve bakterilere (siyah ok) doğru uzamış sitoplazmik çıkıntılar (beyaz ok) (Uranil asetat-Kurşun Sitrat X12000)....	47
Şekil 4.20: Epitel hücre (E) zarından kokobasil görünümündeki bakterilere (siyah ok) doğru uzanan sitoplazmik çıkıntılar (ok) (Uranil asetat-Kurşun Sitrat x12000).....	47
Şekil 4.21: Hücre zarından uzayan bir sitoplazmik çıkıntının iki ayrı bakteriye doğru çatallanma göstererek uzaması (ok). Hücre zarında birikmiş aktin plakları (kalın ok). Bakterilerin çevresinde fibriller yapıda ekstropolisakkarit (EPS=yıldız) hücre sitoplazmasında da dağınık aktin demetleri görülmektedir (Uranil asetat Kurşun Sitrat x40000).....	48
Şekil 4.22: Clue cell tipi hücrenin sitoplazmasıyla kaynaşmış bakteri (siyah ok) ve bakteri fagositoz etmiş, içinde bakteri artıkları olan vakuoller (beyaz ok). Ayrıca fibriller yapıda EPS de görülmekte (yıldız) (Uranil asetat-Kurşun Sitrat X30000).....	48
Şekil 4.23: Bir önceki resmin daha büyütülmüş hali. Duvar bütünlüğü bozulmuş bakteriye dik olarak uzanmış ve kaynaşmış aktin filamentleri (beyaz ok). Ayrıca içi bakteri artığı dolu olan vakuol (siyah ok) görülmekte. Yine bakteriden uzanan biyofilm materyali de görülmektedir (yıldız) Bütünlüğünü koruyan bakteri ile fagositik vakuol içindeki maddenin benzer oluşu dikkati çekmektedir (Kırmızı çember) (Uranil asetat-Kurşun Sitrat X60000).....	49
Şekil 4.24: Epitel hücre sitoplazmasında dağınık halde bulunan aktin filamentleri	

bakteriye dik bir şekilde bağlanmış (beyaz ok). Aktin filamentleriyle kaynaşmış bakterinin hücre duvarı bozulmuşken hemen yanındaki bakterinin hücre duvarı ve duvardan dışarıya doğru uzayan pilileri (kırmızı çember) net bir şekilde gözlenmekte. Ayrıca fibriller yapıdaki EPS (yıldız) daha yakından görülmektedir. Sitoplazmada bol miktarda glikojen granülü bulunmaktadır (Kırmızı kare) (Uranil asetat-Kurşun Sitrat X100000).....49

Şekil 4.25: Bakteriyle sitoplazmanın kaynaştığı bölgede hücre zarı kaybolmuşken (kalın siyah ok) sağ taraftaki bakteriye (siyah ok) çok yakın hücre zarı bütünlüğünü korumaktadır (beyaz ok). Ayrıca bakterinin yeni salgılamaya başladığını düşündüğümüz biyofilm materyali de (yıldız) gözlenmektedir (Uranil asetat-Kurşun itrat X100000).....50

ÇİZELGE DİZİNİ

Sayfa No

Çizelge 4.1: Çalışma grubundaki hastalar ile kontrol grubundaki hastaların PAP yaymalarının BV kriterleri açısından değerlendirilmesi.....34

Çizelge 4.2. Çalışma grubu ve kontrol grubu hastaların PAP yaymalarının incelenmesi sonucu elde edilen sitolojik bulgular.....35

Çizelge 4.3: Çalışma grubundaki hastalar ile kontrol grubundaki hastaların klinik şikayetlerinin değerlendirilmesi.....36

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

α	Alfa
β	Beta
γ	Gama
μ	Mikron

Kısaltmalar

AGC	Atypic Glandular Cells (Atipik Endoservikal Hücreler)
ASCUS	Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance (Önemi Belirlenememiş skuamoz epitel hücreler)
BV	Bakteriyel vajinozis
cc	Clue cell
ELİSA	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
EM	Elektron Mikroskop
EPS	Ekzopolisakkarit
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
HIV	Human Immunodeficiency Virus (İnsan Bağışıklık Yetmezlik Virüsü)
IBD	inflammatory bowel disease (Barsağın İltihabi hastalığı)
IL-1	İnterleukin 1
kDa	Kilo Dalton
KOH	Potasyum hidroksit
NaCl	Sodyum klorür
NAGA	N asetil glukoz amin
NAMA	N asetil muramik asit

nm	Nanometre
LOS	Lipooligosakkarit
LPS	Lipopolisakkarit
PAP	Papanicolaou
PID	Pelvic Inflammatory Disease (Pelviğin İltihabi Hastalığı)
PMNL	Polimorfonükleer lökosit
RİA	Rahim İçi Araç
SPSS	Statistical Package of Social Sciences (Sosyal Bilimleri için istatistik programı)
TIR	Toll- IL1
TLR	Toll- Like Receptor (Toll- Benzeri Reseptör)
UV	Ultra Viyole

1. GİRİŞ

Bakteriler, insan vücudu dahil çeşitli ekolojik ortamlarda yaşamaya adapte olmuş mikroorganizmalardır. Bazı bakteriler ise insan vücuduna girerek hücrelerin yüzeyine yerleşmekte ve enfeksiyon oluşturmaktadırlar. Bu patojenik bakteriler, enfeksiyon oluşumu sırasında çeşitli adezyon molekülleriyle konak hücreye yapışmakta ve salgıladıkları toksinlerle konak hücrede immün cevabı başlatmaktadır. Enfeksiyon oluşumu için bakterilerin konak hücreye adezyonu ise en önemli basamaklardan biridir [1].

İnsan vücudunda barsak mukozası, ağız mukozası ve genital mukoza patojenik bakterilerin vücuda girmesi ve hastalık oluşturması açısından en elverişli yüzeylerdir. Bununla beraber, mukozal yüzeylerin çok katlı epitel tabakası konakçıyı patojenik bakterilere karşı bir bariyer gibi korumaktadır. Ancak, bazen bu bariyer kırılmakta ve patojenik bakteriler epitel hücrelere yapışarak enfeksiyona neden olmaktadır. Epitel hücrelerin yüzeyindeki çeşitli adezyon molekülleri bakteriler için reseptör görevi görmektedir ve bakteriler bu molekülleri tanıyarak epitel hücrelere yapışmaktadır [2].

Bakteriyel vajinozis (BV) denilen bir vajinit çeşidinde ise bakteriler vajinal epitel hücrelere yapışarak clue cell denilen hücreleri meydana getirirler. BV'de, bu bakterilerin sayısı artarak normal flora elemanı olan Laktobasillerin yerine geçmekte ve sayılarının azalmasına neden olmaktadır. Clue cell oluşumunda en önemli bakterinin *Gardnerella vaginalis* olduğu araştırmacılar tarafından bildirilmektedir. BV enfeksiyonu için kullanılan tanı kriterleri; beyaz-gri bir akıntının görülmesi ve akıntının balık kokusu tarzında olmasıdır. Mikroskopik incelemede clue cell hücrelerinin ve bu hücrelerin arasından serbest kok ve kokobasillerin görülmesi, polimorf nükleer lökositlerin ise görülmemesi en önemli tanı bulgularındandır [3, 4, 5].

Clue cell hücreleri BV tanısında ilk olarak ilk kez 1955 yılında Gardner ve Duker tarafından kullanılmıştır [3]. Epitel hücrelerine yapışmış gram negatif bakterilerin hücre duvarındaki lipopolisakarit, gram pozitif bakterilerin hücre duvarındaki teikoik asit gibi adezyon molekülleri ve pililer adezyonda görev almaktadır ve bakteriler biyofilm oluşumuyla bu yapışmayı artırarak enfeksiyonu daha kalıcı hale getirmektedirler. Epitel hücre yüzeyinde bulunan adezyon molekülleri ise bakteriler

tarafından tanınmakta ve clue cell oluşum mekanizmasında rol oynamaktadır. Bu adezyon molekülleri; karbohidratlar, E-kaderin ve Toll-benzeri receptor4' tür.

Clue cell ile ilgili çeşitli elektron mikroskopik araştırmalar da yapılmıştır. *Gardnerella vaginalis*'in vajinal epitel hücreleriyle, eritrositlerle ve McCoy (hücre kültüründe üretilmiş hücreler) hücreleriyle olan adezyon ilişkisinin elektron mikroskopik olarak gösterilmesiyle ilgili bir araştırmada, *G. vaginalis*'in hücre duvarından dışarı doğru uzanan pililerin bu üç tip hücreye yapıştığı ve pililerin adezyonda görev aldığı ortaya konmuştur [6]. *G. vaginalis* suşlarının, vajinal epitel hücrelerine ve McCoy hücrelerine kısa pililerle yapışırken, eritrositlere ise daha uzun pililerle yapıştığı gözlenmiştir. Bu pililerin adezyondan sorumlu kısımları ise FimH alt ünitesidir. Yapışma sonrası ise *G. vaginalis* suşlarının salgıladıkları enzimlerle epitel hücrelerini erittikleri ve bu noktalardan içeri girdikleri de gösterilmiştir [7].

Araştırmamızın amacı, fertil dönemdeki hastalardan alınan servikovajinal örneklerde sitolojik ve elektron mikroskopik yöntemler kullanılarak, BV olgularında gözlenen clue cell tipi hücrede epitel hücre-bakteri yapışmasını incelemek, yapışma sırasında rol oynayan yapıları belirlemek ve oluşan morfolojik değişiklikleri gözlemlemektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Epitel Hücre - Bakteri İlişkisi

İnsan vajinal mukozası çok katlı yassı epitelden oluşmaktadır. Bu epitelin çok katlı oluşu ve bu katları meydana getiren epitel hücreler arasındaki bağlantının güçlü olması, hücreleri viral ve bakteriyel patojenlere karşı korumaktadır. Epitel hücreleri birbirlerine çeşitli adezyon molekülleriyle bağlanmaktadır. Bu moleküller ayrıca patojen bakteriler tarafından da tanınmakta ve bakterilerin hücrelere tutunmasına olanak sağlamaktadır. Patojen bir bakterinin enfeksiyon oluşturabilmesi için en önemli ilk basamak ise konak hücreye yapışmasıdır. Hücreye yapıştıktan sonra besin maddelerini hücreden sağlamakta, hücre zarını lizize uğratıp hücre içine girmekte ve endotoksin gibi maddeler salgılamaktadırlar. Bu aşamadan sonra vücudun bağışıklık sistemi harekete geçmektedir. Bu yüzden birçok enfeksiyonda bakterilerin epitel hücreleriyle olan ilişkisi önemli bir yer tutmaktadır. Bu ilişkinin detaylı olarak incelenmesi tedaviye yardımcı olacak bilgilere ulaşılmasını sağlayabilir ve yeni tedavi yöntemlerinin önünü açabilir.

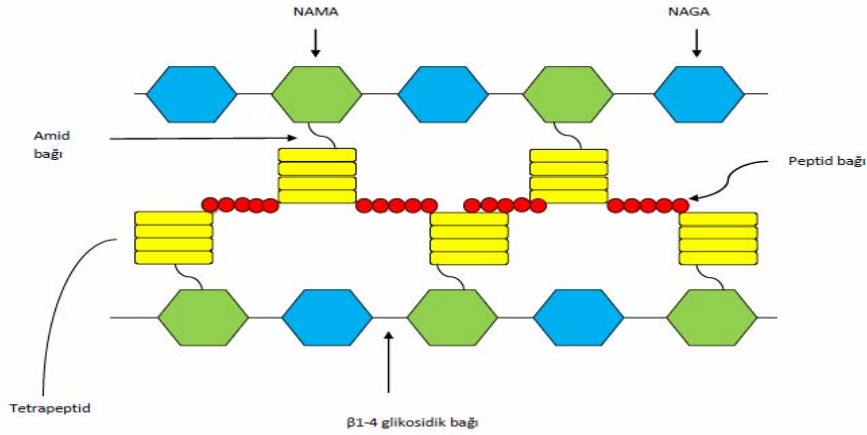
2.2. Bakteri Hücre Duvarı

Bakterilerin konak hücreyle adezyonunda hücre duvarı çok önemli bir yer tutmaktadır. Gram negatif ve pozitif bakteriler temel olarak aynı duvar yapısına sahiptirler. Hücre duvarı ise kendine has, ayrıcalıklı bir kimyasal yapıdadır. Hem gram pozitif hem de gram negatif bakterilerin duvar yapısı detaylı bir şekilde anlatılacaktır.

2.2.1. Gram Negatif Bakteri Hücre Duvarı

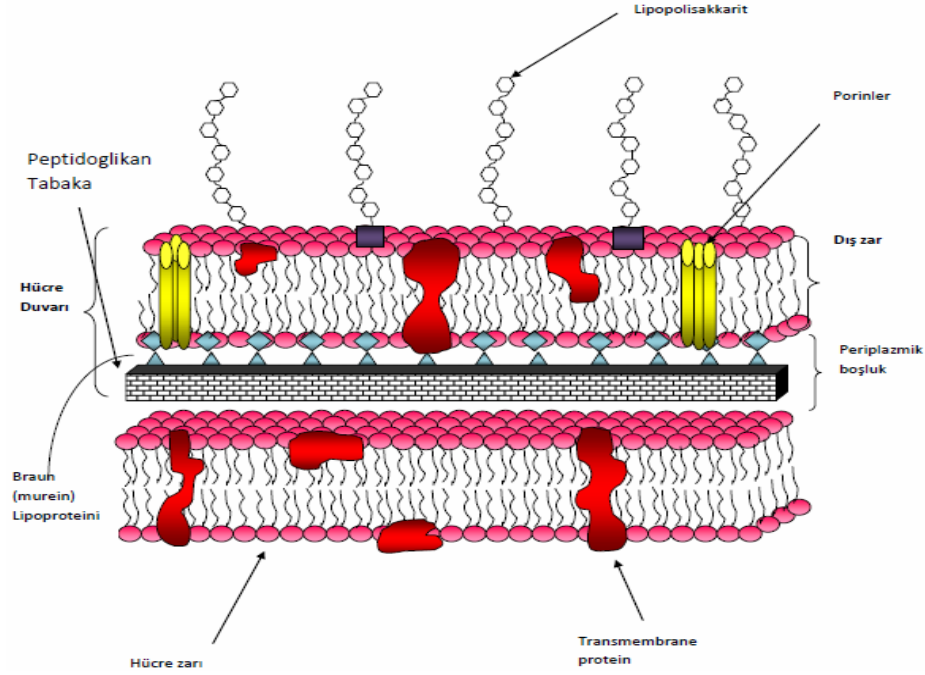
Bakterilerde hücre zarının üstünde hücreye şeklini veren hücre duvarı yer almaktadır. Hücre duvarı gram negatif bakterilerde peptidoglikan tabaka ve dış zardan meydana gelmektedir. Hücre zarı tüm organizmalarda olduğu gibi çift katlı lipid tabakası ve proteinlerden oluşmaktadır. Hücre duvarının ilk katı olan peptidoglikan tabaka ise iki farklı şeker molekülünden oluşan heteropolimerdir ve bu nedenle peptidoglikan tabaka olarak isimlendirilmiştir. Bunun yanı sıra murein tabaka olarak da adlandırılmaktadır. Hücre duvarının yapısında bulunan şekerler N-asetil glukozamin (NAGA) ve N-asetil muramik asit (NAMA) molekülleridir. Bu iki molekül birbirine β 1-4 glikosidik bağı ile bağlanarak düz zincir şeklinde bir yapı

oluşturmaktadır. Glikan zincirler ise birbirlerine özel bir şekilde bağlanmaktadır. Bir zincirdeki NAMA'ya amid bağıyla bağlı olan tetrapeptid, karşısındaki NAMA'ya bağlı olan tetrapeptide peptid bağı ile çapraz bağlanmakta ve zig – zag şeklinde sıkı bir yapı oluşturmaktadır. Bu bağlantılar peptidoglikan tabakayı esnek ve aynı zamanda sağlam yapmaktadır [8].



Şekil 2.1: Peptidoglikan tabakanın kimyasal yapısı

Peptidoglikan tabakanın üzerinde hücre zarına benzer bir dış zar bulunmaktadır. Bu dış zar fosfolipid, protein ve lipopolisakkaritten (LPS) oluşmaktadır. Fosfolipidler biyolojik zarların içerdiği fosfolipidlerle aynı yapıya sahiptir. Proteinler bu dış katmanın neredeyse yarısını oluşturmaktadır. LPS ise lipid ve çeşitli şekerlerden oluşmuş dış zara bağlı bir zincirdir. Ayrıca gram negatif bakterilere anitjenik özellik kazandıran ve adezyonda görev alan yapılardan biridir. Dış zarı peptidoglikan tabakaya bağlayan proteine Braun (murein) lipoproteini adı verilmektedir. Dış zarda Braun lipoproteini dışında porin adı verilen proteinler de bulunmaktadır. Bu proteinler 600 daltondan küçük hidrofilik moleküllerin dış zardan geçmesini sağlayan kanal şeklinde proteinlerdir [9]. Bazı gram negatif bakteriler, dış zarın üzerinde kapsül de sentezlemektedirler [10].



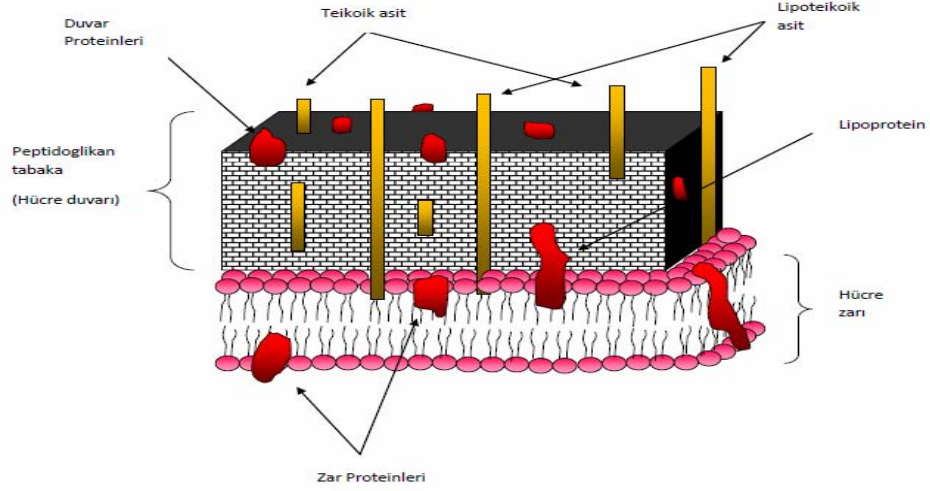
Şekil 2.2: Gram negatif bakteri hücre zarı ve hücre duvarı yapısı (33 numaralı referanstan uyarlanmıştır.)

Ayrıca hücre zarıyla dış zar arasında periplazmik boşluk yer almaktadır. Bu boşluk içinde periplazm adı verilen bir madde bulunmaktadır. Periplazm aminoasit, şeker, vitamin, demir ve çeşitli enzimleri içeren jel kıvamında bir maddedir [11]. Gram negatif bakteriler gram boyama metodu ile kırmızı - pembe boyanırken gram pozitif bakteriler mor boyanmaktadır. Bu boyama yönteminde bakteriler ilk olarak kristal viyole ile muamele edilirler. Kristal viyole hücre içine girerek çeşitli moleküllere tutunur ve hücreye mavi bir renk verir. Buraya kadar olan işlemler sonucu hem gram pozitif hem de gram negatif bakteriler mavi renk boyanırlar. Dolayısıyla ayırım yapmak için ikinci bir boyaya ihtiyaç duyulur. Daha sonra bu boya alkol ile yıkanır. Gram negatif bakterilerin dış zarı alkol ile muamele sonrası lipidler eridiği için çözülür. Peptidoglikan tabaka da çok ince olduğu için alkol hücre içine kolaylıkla geçer ve kristal viyole boyasını hücreden uzaklaştırır. Daha sonra bakteriler karbol fuksin ya da safranin ile muamele edilir. Gram negatif bakterilerde kristal viyole boyası uzaklaştığı için safranin ve karbol fuksin hemen hücre içine alınarak bağlanır ve hücre kırmızı renk alır. Gram pozitif bakterilerde ise peptidoglikan tabaka çok kalın olduğu için alkol hücre içine giremez ve kristal viyole boyası hücre içinde tutulur. Kırmızı renkte olan karbol fuksil ve ya safranin boyası da

hücre içine alınarak mavi renkte olan kristal viyole ile birleşir ve mor bir renk oluşturur. Dolayısıyla gram pozitif bakteriler ise mor renkte görülürler.

2.2.2. Gram Pozitif Bakteri Duvarı

Gram pozitif bakteriler hücre zarı ve kalın bir hücre duvarına sahiptirler. Bazıları hücre duvarı üzerinde polisakkarit yapıda kapsül de sentezlemektedir. Gram pozitif bakterilerdeki peptidoglikan tabaka gram negatif bakterilerde olduğu gibi NAMA ve NAGA şekerlerinden meydana gelmektedir fakat gram negatif bakterilerde peptidoglikan tabaka üzerinde bulunan dış zar ve periplazmik boşluk gram pozitif bakterilerde bulunmamaktadır. Hücre duvarı hücre zarına sıkıca bağlıdır ve *streptococci* dışında tüm gram pozitif bakterilerin hücre duvarının %60 - %90 peptidoglikandır [12]. Ayrıca gram negatiflerden farklı olarak gram pozitif bakterilerin hücre duvarında teikoik asitler bulunmaktadır. Teikoik asitler yapılarında poligliserol fosfat, poliribitol fosfat ya da poliglukosil fosfat bulundurulur bunun yanı sıra bu moleküllere şeker ve/veya aminoasit de bağlanabilmektedir. Teikoik asitler peptidoglikan zincirlere kovalent olarak bağlanmaktadır. Ayrıca hücre zarındaki lipidlere bağlanarak lipoteikoik asitleri de oluşturmaktadırlar. Lipoteikoik asitlerin bakteri konak hücre yapışmasında rol aldığı araştırmacılar tarafından belirtilmektedir [13]. Gram pozitif bakteriler duvar proteinleri de sentezlemektedirler. Bu proteinlerin bazıları kovalent olarak peptidoglikan tabakaya bağlanırken bazıları hücre zarındaki fosfolipidlere bağlanmaktadır. Bu proteinlere lipoproteinler adı verilmektedir [14].



Şekil 2.3: Gram pozitif bakteri hücre zarı ve hücre duvarı yapısı

Gram pozitif bakteriler gram boyama metodunda kalın peptidoglikan tabaka nedeniyle mor olarak boyanmaktadır.

2.3. Epitel Hücre Adezyon Molekülleri

Epitel hücreleri epitel dokuyu meydana getirirken çeşitli adezyon molekülleriyle birbirine sıkı bir şekilde bağlanmaktadır. Bu adezyon molekülleri epitel hücrelerini birbirine bağlarken bir yandan da epitel hücre – bakteri ilişkisinde rol almaktadır. Clue cell tipi hücrelerde de bakteriler bu adezyon molekülleriyle hücreye bağlanmaktadır. E- kaderin, toll-benzeri reseptör ve karbohidratlar bu ilişkide rol oynayan adezyon molekülleridir ve aşağıda bu moleküller tek tek açıklanacaktır.

2.3.1. Kaderinler

Kaderinler 10-15 kadar alt tipi içinde bulunduran hücre- hücre adezyonundan sorumlu transmembran proteinleridir. Kaderinler ailesi içinde yer alan alt gruplar Tip I kaderinler, Tip II kaderinler, desmozomal kaderinler, protokaderinler, flamingo (seven-pass transmembran) kaderinler, FAT (*Drosophila* da bulunan bir kaderindir), Daschsous kaderini, Heart (H) kaderin (T- kaderin), kidney specific (Ksp) kaderin, liver and intestine (LI) kaderin ve rearranged during transfection (RET) proto-oncoproteindir. Epitel hücrelerinde bulunan E- kaderin (*uvomorulin*) ise Tip I kaderin içinde yer almaktadır [15]. Tip I kaderinler ayrıca plesantal (P) kaderini,

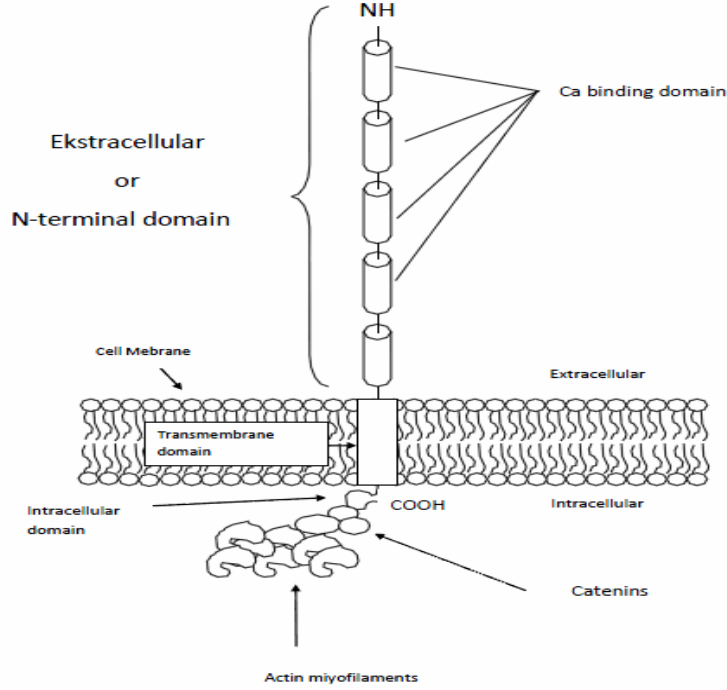
mezenşimal (M) kaderini, retina (R) kaderini ve nöral (N) kaderini içermektedir, bu moleküller dışında 10 adet daha üyesi bulunmaktadır [16]. Bu proteinlerin yapısı üç kısımdan oluşmaktadır. Hücre dışında kalan kısma amino-terminal uç, hücre zarı içinde kalan kısma transmembran kısım, sitozol içinde kalan bölgeye de karboksil grubu içerdiği için karboksi-terminal uç denir. Hücre adezyonundan sorumlu kısım amino-terminal kısımdır [17, 18, 19]. Bu kısım 100 amino asit molekülünden oluşmaktadır [19]. Bu 100 amino asit de peş peşe sıralanmış beş adet tekrarlayan amino asit dizilerinden meydana gelmiştir. Bu tekrarlayan bölgelerin içindeki histidin, alanin ve valin aminosasitleri adezyonda tanıma bölgesi olarak görev almaktadır [16].

Kaderinlerin adezyonu için Ca^{+2} temel moleküllerden biridir. Ca^{+2} molekülleri tekrarlayan amino asit dizilerinin arasına girerek onların dik durmasını sağlarlar. Eğer Ca^{+2} molekülleri kaderinlerin amino terminal ucuna bağlanmazsa kaderinler eğilip bükülerek adezyon görevlerini yerine getiremezler, yani Ca^{+2} molekülleri kaderinleri adezyon yapmaları için aktiveştiren moleküllerdir [15,19]. Kaderinler hücre-hücre bağlantılarında dimer oluşturarak sıkı bağlantı yapabilmektedirler [16]. Kaderinler süper ailesi içinde bulunan alt tipler, aynı yapıya sahip olmasına rağmen amino-terminal kısmındaki amino asit dizisini değiştirerek farklı hücrelere bağlanma özelliği kazanırlar. Bu da farklı adezyon özgüllüğünü göstermektedir [19].

Kaderinlerin ikinci kısmı epitel hücre zarını bir kez boydan boya kat eden bölgedir [15,17]. Flamingo tipinde de membranı yedi kez kateden transmembran bölge bulunmaktadır. T (H) kaderin çeşidinde ise transmembran ve sitozolik kısım yoktur Bu protein zara glikosilfosfatidilinositol lipidiyle bağlanmaktadır [15].

Kaderinlerin üçüncü kısmı ise sitoplazmada bulunan karboksi-terminal uç bölgesidir. Bu uç 150 aminoasitten meydana gelmiştir. Kaderinler bu sitoplazmik uçlarıyla sitoplazma içindeki katenin denilen proteinlere bağlanırlar [17]. Bu nedenle kateninler hücre içi bağlayıcı proteinlerdir. Bu protein dört birimden meydana gelmektedir. Bunlar ; α -kateninler, β -kateninler, γ -kateninler ve p120-kateninler (*plakoglobin*) dir [15]. β -katenin'ler kaderinlerin sitoplazmik uçlarına bağlanmaktadır. α -kateninler ise β -kateninlerle bağlantı halindedir. β -katenin E-kaderinin sitoplazmik ucuna bağlanırken α -katenin ise aktin miyoflamentlerine bağlanmaktadır [15, 17, 18]. γ -katenin bazı durumlarda β katenin- yerine geçerek

onlarla aynı görevi üstlenmektedir. p-120 katenin ise kaderinlerin karboksi ucunun membrana değdiği (proksimal) kısmına bağlanır ve RhoGTPaz (Ras homolog GTPaz) aracılığıyla dolaylı yoldan kaderinlerin hücre iskeletine bağlanmasını denetler [15].



Şekil 2.4: Kaderin proteinin yapısı

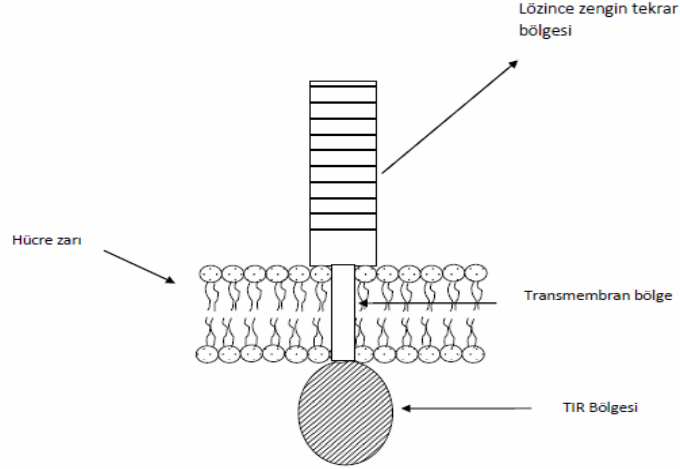
E-kaderinler epitel hücrelerin adezyon kemeri denilen ve epitel hücrelerin apikal kısmında yerleşmiş hücre-hücre bağlantılarında yer almaktadır [15]. Bu protein çok katlı yassı epitelin bazal ve parabazal hücrelerinde diğer katlardan daha bol bulunmaktadır. Hücreler arasında bulunan bu sıkı bağlantı nedeniyle patojen bakterilere karşı koruyucu bir bariyer görevi görmektedir. Fakat yüzeyel hücrelere gelindikçe kaderin molekülü sentezinin azaldığı ve hücrelerin birbirine sıkıca tutunamadığı, dolayısıyla yüzeyel hücrelerin döküldüğü araştırmacılar tarafından belirtilmektedir. Kaderin miktarındaki bu azalma nedeninin yüzeyel hücrelere gelindikçe çekirdeğin küçülmesi ve kaderinleri sentezleyen genlerin işlevlerinin azalması olduğu düşünülmektedir [20]. İltihabi hastalıklarda ve neoplazide kaderin sentezinin değiştiği araştırmacılar tarafından gösterilmiştir [21]. İltihabi olaylarda E-kaderin sentezinin arttığı neoplazi durumlarında ise azaldığı yapılan araştırmalarla ortaya konmuştur [22, 23].

Bazı patojenler kaderinlerin amino-terminal gruplarına bağlanabilmektedir. Bu sayede hastalık oluşturabilmektedir. Örneğin, hayvanlarda ve insanlarda merkezi sinir sistemine ilişkin bozukluklarla karakterize bir bakteriyel enfeksiyon olan listeriosis hastalığının etkeni *Listeria monocytogenes*, konakçı epitel hücrelerinin yüzeyindeki E-kaderinlere bağlanmaktadır [24]. Yapılan immünohistolojik bir araştırmada *Gardnerella vaginalis* ve *Bacteroides* spp. nin skuamoz epitel hücrelerinde kaderin sentezini değiştirdiği bulunmuştur. Bu değişikliğin *G. vaginalis*' in skuamoz epitelde kaderin ve β -katenin miktarını azalttığı, *Bacteroides*' in ise kaderin miktarını azaltırken, β - katenin miktarını arttırdığı gözlenmiştir. Araştırmacılar bu değişikliklerin patojenler tarafından oluşturulan immün cevaptan ve artan sitokin miktarından kaynaklanıyor olabileceğini düşünmektedir [21].

2.3.2. Toll Benzeri Reseptör

Toll benzeri reseptörler immün bağışıklıkta çok önemli bir yere sahiptir. Organizmalaralara ait molekülleri tanıyarak çeşitli sinyal yollarını aktifleştirir ve immün sistemi harekete geçirirler [25]. Toll geni ilk olarak *Drosophila*' da keşfedilmiştir. Bu gen gelişen embriyoda dorsa-ventral polariteyi sağlayan bir genidir. Fakat daha sonra, bu genin funguslara karşı cevap oluşturduğu keşfedilmiştir. İlerleyen zamanlarda yapılan genetik çalışmalarda ise insanlarda da bu genin homoloğu olduğu bulunmuş ve bunun üzerine bu genin kodladığı reseptöre Toll- benzeri reseptörler denmiştir. Şimdiye kadar memelilerde birden ona kadar sıralı 10 adet Toll -benzeri reseptör keşfedilmiştir [26].

Toll- benzeri reseptörler Tip I transmembran proteinleridir [27]. Bu proteinler üç kısımdan oluşmaktadır. Bu kısımlar; at nalı şeklinde kıvrım yapan hücre zarının dışında kalan (ekstraselüler) kısım, hücre zarına gömülü (transmembran) kısım ve sitozol içindeki (intraselüler) kısımdır [25, 26, 27, 28]. Ekstraselüler kısım lösince zengin tekrarlardan oluşan bölgedir ve patojenleri tanıyan kısımdır. Bu kısım 20-30 amino asit dizisi içermektedir. Bazen lösince zengin tekrarların arasına valin, izolösin ve fenil alanin gibi hidrofobik aminoasitler yerleşebilmektedir [27]. Transmembran kısım zarı bir kez katetmekte ve patojenleri tanıdıktan sonra alınan sinyalleri iletmektedir. Sitoplazmik (İntraselüler) kısım ise interlökin 1 (IL-1) ile homologtur. Bu bölge Toll-IL-1 Reseptör (TIR) bölgesi olarak adlandırılmaktadır ve sitoplazmaya sinyalleri yayarak çeşitli yolları başlatan bölgedir [25].



Şekil 2.5: Toll Benzeri Reseptörün yapısının şematik gösterimi

TLR4, vajinal epitelde ifadesi olan, gram negatif bakterilerin lipopolisakkaritlerini tanıyan ve immün sistemi harekete geçiren toll benzeri reseptördür [26, 28]. Yapılan bir araştırmada *Gardnerella vaginalis*' in TLR4 tarafından tanındığı ve lenfositlerdeki interlökin seviyesinde artışa neden olduğu belirtilmektedir [29].

2.3.3. Karbohidratlar

Bakteriler epitel hücre zarındaki karbohidratları tanıyarak hücreye tutunmakta ve enfeksiyon oluşturmaktadır. Yapılan bir araştırmada hücre yüzeyindeki karbohidratların *Gardnerella vaginalis* - epitel hücre ilişkisinde rol alabileceği ortaya konmuştur. Araştırmacılar clue cell hücrelerine, karbohidratların hidroksil gruplarının bağlı olduğu C – C bağına kıran sodyum-meta-periodat uygulamışlar ve bu uygulama sonucunda bağlanmanın inhibe olduğunu gözlemlemişlerdir. Araştırmacılar bu sonuçlara dayanarak epitel hücrelerin yüzeyindeki karbohidratların adezyon mekanizmasında rol alabileceklerini söylemişlerdir [30].

Yapışmada hangi şekerlerin rol aldığını gösteren bir araştırmada ise clue cell hücrelerine N-galaktozamin ve D-galaktoz uygulanmıştır. Bu uygulama sonucu *G. vaginalis* suşları epitel hücrelere tutunmayı bırakarak bu şeker moleküllerine tutunmuşlardır. Dolayısıyla epitel hücre – bakteri yapışması inhibe olmuştur. Bu araştırma sonucuna göre *G. vaginalis* türlerinin galaktoz ve galaktozamin içeren reseptörler ile bu şekerlere bağlandığı söylenmiştir. Aynı araştırmada *G. vaginalis* ile kırmızı kan hücrelerinin de yapışması incelenmiş ve bu hücrelerde yapışmanın büyük oranda inhibe olduğu gözlenmiştir. Fakat vajinal epitel hücrelerde ise

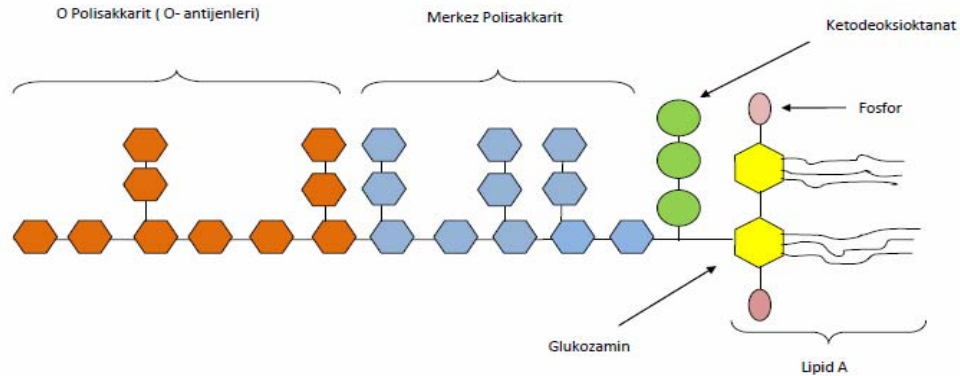
inhibisyon kan hücrelerinde olduğu kadar büyük oranda olmamıştır. Araştırmacılar yapışmanın devam etmesinin nedeni olarak, *G. vaginalis*'in vajinal epitel hücrelerle adezyonunda, birden fazla mekanizmayı rol almasını düşünmektedir [31].

2.4. Bakteri Adezyon Molekülleri

Çoğu enfeksiyonda bakterilerin konak hücreye adezyonu ilk basamağı oluşturmaktadır. Bakteri hücreye çeşitli adezyon molekülleriyle tutunarak immün sistemi harekete geçirmektedir. Bakteriyel vajinoziste da clue cell oluşumu için bakterilerin vajinal epitel hücrelerine tutunması gerekmektedir. Aşağıda bakteri adezyon moleküllerine tek tek değinilecektir.

2.4.1. Lipopolisakkarit

Gram negatif bakterilerin hücre duvarının en üst katı olan dış zarda yer alan lipopolisakkarit (LPS) yüksek derecede antijeniktir ve gram negatif bakterilerin patojenitesinde önemli bir yer tutmaktadır. LPS, lipid ve karbonhidratlardan oluşmuş ve dış zardaki fosfolipidlerin baş kısmına sıkıca bağlı zincir şeklinde bir yapıdır. Bu zincir şeklindeki molekül üç bölgeden oluşmaktadır. Bu bölgeler hidrofobik baş kısmını oluşturan lipid A bölgesi, iskelet kısmını oluşturan öz polisakkarit bölgesi ve iskeletin devamı olan somatik antijen bölgesidir (O-antijenleri). Lipid A molekülü, diğer lipid moleküllerinden farklı yapıda olan fosforile bir lipid molekülüdür. Yapısında gliserol yerine glukozamin içermektedir ve β -hidroksimiyristik (C14) asit bakımından zengindir. Bunun dışında kaproik asit (C6), laurik asit (C12), palmitik asit (C16) ve strearik (C18) asit de içermektedir [32, 33].



Şekil 2.6: Lipopolisakkaritin kimyasal yapısı (33 numaralı referanstan uyarılma)

Lipid A bölgesi, LPS molekülünde aynı zamanda endotoksin görevi gören kısımdır. Canlı hücrede dış zara sıkıca bağlı olan LPS molekülü, bakteri ölüp hücre duvarı parçalanınca serbest kalmakta ve lipid A, TLR4 (Toll Like Receptor) ve CD14 (cluster of differentiation 14) gibi immün sistem reseptörleri tarafından tanınarak konak hücrede Interlökin 1 salgısını başlatmaktadır [34].

Öz polisakkarit bölgesi ise iki kısma ayrılmaktadır. İlk kısım lipid A ya bağlanan iç merkez polisakkarit bölgesi ikinci kısım ise somatik antijen bölgesi için bağlayıcı olan dış merkez polisakkarit bölgesidir. Lipid A, merkez polisakkarit bölgesine iç kısımda bulunan ketodeoksioktanat molekülüyle bağlanmaktadır. Dış merkezi polisakkarit bölgesindeki şekerler ise daha fazla çeşitlilik göstermekte ve bakteri – konak hücre ilişkisinde görev almaktadır. O - antijenleri ise LPS' nin en uç bölgesidir. Fakat mukozaya yerleşen patojenlerde O - antijeni genellikle bulunmamaktadır. Bunun yerine merkez polisakkaritin iç kısmı daha uzun zincir oluşturmaktadır. Bu molekül ise lipooligosakkarit (LOS) olarak adlandırılmaktadır [32, 34]. O - antijenleri konak hücre reseptörleri tarafından tanınmakta ve adezyonda görev almaktadır [35].

2.4.2. Teikoik Asit

Teikoik asitler gram pozitif bakterilerde bulunan bir duvar bileşenidir. Bu molekül poligliserol fosfattan oluşmaktadır. Bazen şekerler veya aminoasitler de bu moleküle bağlanabilmektedir. Yapılan araştırmalarda, teikoik asitlere glukoz ve glukozamin şekerlerinin bağlanabildiği, ayrıca D-alanin aminoasitinin de poligliserol molekülüne bağlanabildiği gösterilmiştir. Teikoik asitler peptidoglikan tabakadaki glikan zincirlere kovalent olarak bağlanmaktadır. Bunun yanı sıra hücre zarındaki lipidlere bağlanarak lipoteikoik asitleri oluşturmaktadırlar. Bir teikoik asit molekülünde 7 ila 32 arasında tekrar eden gliserol fosfat ünitesi bulunabilir. Teikoik asitlerin fosfat grupları gram pozitif bakterilerin yüzeyinde negatif yük oluşturarak elektriksel bir alan yaratmaktadır [13, 36]. Bu elektriksel alan ise bakteri yapışmasında önemli bir rol oynamaktadır. Yapılan bir araştırmada D-alanin içeren teikoik asit moleküllerinin, bakterilerin polar ve apolar yüzeylere yapışmasında görev aldığı gösterilmiştir. Araştırmada teikoik asit içermeyen *Staphylococcus aureus* mutant tiplerinin polar ve apolar yüzeylere yapışma oranının *S. aureus*' un normal tiplerinden daha düşük olduğu gösterilmiştir. Ayrıca aynı araştırmada *S.*

aureus'un biofilm oluşumunda, teikoik asitler tarafından oluşturulan elektriksel alanın çok önemli bir basamak olduğu gösterilmiştir [37].

2.4.3. Basit Pili

Patojen bakteriler, konakçıda hastalık oluşturabilmek için ilk olarak pilileri ile konakçı hücreye tutunmakta ve o hücre üzerinde koloni oluşturmaktadırlar. Pililer bakteri hücre duvarından dış ortama uzanan fibröz yapılardır [38]. Gram negatif bakteriler ile gram pozitif bakterilerin pili yapıları ve yapışma mekanizmaları farklılıklar göstermektedir. Clue cell oluşumunda görev alan ve gram negatif bakterilerle aynı pili tipine sahip olan olan *Gardnerella vaginalis*'in Tip I piliyi kodlayan genler içerdiği yapılan araştırmalarla gösterilmiştir [39]. Ayrıca başka bir araştırmada ise *G. vaginalis*'in vajinal epitel hücrelerine bu pililer aracılığıyla tutunduğu araştırmacılar tarafından ortaya konmuştur [6].

Gram negatif bakterilerde şu ana kadar detaylı olarak araştırılıp yapıları ortaya konmuş dört çeşit pili bulunmaktadır. Bunlar şaperon aracılı pili, kıvrık pili, Trimerik ototransporter adhesinler ve Tip IV pilidir. Bunlar dışında daha bir çok pili çeşidi olduğu araştırmacılar tarafından düşünülmektedir. Tip I pili ise şaperon aracılı pililer içine girmektedir. Yani bu pililerin alt üniteleri sentezlendikten sonra şaperon adı verilen özel proteinler tarafından düzenlenirler. Kıvrık pililer her hangi bir moleküle özgü bağlanma göstermezler. Trimerik ototransporter adezinler ise konak hücreyle ya da ekstraselüler matriks proteinlerine yapışabilmektedirler. Tip IV pililerin yapışma mekanizması ise hala tam olarak aydınlatılamamıştır fakat *Neisseria* ile yapılan çalışmalar sonucu pililerin ucunda bulunan dört farklı protein inaktifken bağlanmanın olmadığı gözlenmiştir [7].

Tip 1 pilinin yapısına detaylı olarak bakacak olursak, bir araya gelmiş alt ünitelerden oluşmuş düz bir pilidir. Sitoplazmada sentezlenen alt üniteler zara yerleşmiş integral protein olan sekretin kanal proteini ile periplazmaya iletilirler. Burada FimC şaperonu, kanaldan geçmiş olan alt ünitelere bağlanıp etrafını bir kılıf gibi sararak proteinin üç boyutlu yapı kazanmasını sağlar ve bu proteinlerin periplazmada kümeler oluşturmasını önler. Etrafında şaperon olan bu proteinler FimA alt üniteleridir. Pili oluşumunda görev alan üç adet alt ünite vardır. Bunlardan FimA alt üniteleri periplazmadan dış zara doğru yönelirler ve kanal proteinlerine tutunarak hücre dışına doğru uzamaya başlarlar. FimA'lerden oluşmuş taban

kısından sonra FimG alt ünitesi gelmektedir. Bu alt ünite en üste yerleşmiş monoz - spesifik FimH ile FimA ünitelerinin birbirine bağlayan kısımdır. FimH alt ünitesi mannoz - spesifik olduğu için mannoz şekeri içeren biyomolekülleri bağlar ve bu kısım yapışmadan sorumlu bölgedir. Dolayısıyla epitel hücre yüzeyindeki mannoz içeren reseptörlere *Gardnerella vaginalis* FimH ucuyla bağlanır. Pili oluşumu bakteri yüzeyinden dışarı doğru ulaşıncaya kadar devam etmektedir. Bu oluşumun nasıl sonlandığı ise hala bilinmemektedir. Ayrıca Tip I pililer TLR4 tarafından da tanınmaktadır [7, 40].

2.4.4. Biyofilm

Bakteriyel biyofilmler tek hücreleri canlıların bir araya gelip, katı ya da sıvı yüzeylere yapışarak oluşturdukları matriks şeklinde bir yapıdır. Biyofilmler tek tür bakterilerin organizasyonu ya da birden çok bakteri türünün organizasyonu ile oluşturulabilir [41].

Biyofilm oluşumu için ilk basamak bakterilerin yüzeye tutunmasıdır. Bu tutunma işini pilileri sayesinde gerçekleştirmektedirler. Pililer ayrıca bir araya gelen bakteriler arasında konjugasyonu da sağlamaktadır. Bu konjugasyon sırasında bakteriler biyofilm içinde yaşamaya uygun adaptasyonlar geçirirler. Bunlardan bir kaç UV (Ultra Viyole) ışın direnci, genetik değişiklikte azalma, sekonder metabolit üretiminde azalmadır [42]. İkinci basamak ise yüzeye tutunan ve koloni oluşturan bakteriler bir araya gelme sinyali (quorum sensing) sonrası ekzopolisakkarit dediğimiz biyofilm matriksini salgılamaya başlarlar. Bu haberleşme açılımların laktonazlar olarak bilinen moleküller ile sağlanmaktadır [42, 43]. Ekzopolisakkarit karbonhidrat içeriği fazla olan bir bileşiktir. Galaktoz, glikoz, mannoz gibi her tür şekeri içerebilir. Bunun yanında aminoasit de içermektedir [44]. Bazı bakterilerde bu maddelere ek olarak farklı moleküller de bulunmaktadır. Örneğin *Escherichia coli* türünün oluşturduğu biyofilimde kolonik asit de bulunmaktadır [42].

Son basamak ise alınan bir sinyalle bakterilerin biyofilmden ayrılmaya başlamasıdır. Bu ayrılmayı başlatan sinyaller hakkında da kesin bir bilgi bulunmamaktadır fakat araştırmacılar bu sinyallerden birinin besin yetersizliği olabileceğini düşünmektedir. Bunun yanı sıra, Boyd & Chakraborty [42] adlı araştırmacılar yaptıkları deneyde *Pseudomonas aeruginosa*'nın biyofilmden ayrılma hızının maksimum olduğu zamanda "alginat liyaz" sentezinin aşırı arttığını

gözlemlenmişlerdir ve buna dayanarak *P. aeuroginosa*'nın ayrılmasında alginat liyazın önemli bir yeri olabileceğini belirtmişlerdir.

Bakteriyel biyofilmler tekrarlayan birçok inatçı bakteriyel hastalığın kaynağıdır. Diş hastalıkları, endokarditis, akciğer hastalıkları, barsağın iltihabi hastalığı (IBD), bakteriyel vajinozis gibi kronik hastalıklarda önemli rolü vardır [45]. Ayrıca kataterler, silikonlar, kontak lensler, RIA (Rahim İçi Araç), cerrahi aletler gibi birçok biyolojik materyal üzerinde oluşabilirler [41]. Biyofilm antibiyotik direncinde de önemli bir yer tutmaktadır. Birçok bakteriyel hastalığın tedavi edilemeyip, tekrarlamasının nedenleri arasında yer almaktadır.

Gardnerella vaginalis'in bakteriyel vajinozis sırasında biyofilm oluşturduğu yapılan araştırmalarla gösterilmiştir [45, 46, 47]. Araştırmacılar bakteriyel vajinozis enfeksiyonun sırasında clue cell üzerinde oluşan biyofilmde baskın organizmanın *G. vaginalis* olduğunu gözlemlenmişlerdir [47]. Başka bir araştırmada ise *G. vaginalis* suşlarının biyofilm içinde milimetre başına 10^{11} e kadar ulaştığı gösterilmiştir. Yapılan başka bir araştırmada ise bakteriyel vajinozis olan hastalara yedi gün boyunca günde iki kez metronidazol uygulanmıştır. Tedaviden beş hafta sonra üç hastadan biyopsi örneği alınmış ve immunofloresan boyama sonucu biyofilm varlığı ortaya konmuştur. Bunun sonucunda araştırmacılar metronidazol tedavisinin bakteriyel vajinozisi tedavi etmede yetersiz olduğunu, biyofilm oluşumunun tedaviden sonra da gözlemlendiğini ve bakteriyel vajinozisin tekrarlanmasının nedenlerinden birinin biyofilm olabileceğini belirtmektedir [45].

2.5. Adezyonda Görev Alan Bakteriyel Enzimler

Mukus (musin), su, glikoprotein ve iyonlardan oluşan bir yapıdır. Mukusun yapısında L- fukoz, N-asetilneurominik asit (sialik asit), galaktoz, N-asetil galaktozamin ve N-asetil glukozamin şekerleri bulunmaktadır ve bu şekerler merkezde bulunan proteinleri bir kafes gibi sararak, proteinleri bakterilerin proteolitik aktivitelerine karşı korumaktadır [48]. Bu yapı eksternal os yüzeyinde bulunmakta ve serviksi bir tıkaç gibi kapatmaktadır. Vajinal florada bulunan patojen bakteriler tarafından salgılanan çeşitli enzimler, endoservikal hücreler tarafından salgılanan mukusun yapısındaki karbohidratları parçalamakta ve proteinlerin yapısını bozmaktadır. Bu nedenle de koruyucu bir görevi olan mukus parçalandığında bakterilerin hücreler yapışması daha kolay olmaktadır.

2.5.1. Siyalidazlar

Siyalidazlar, mukusun yapısındaki siyalik asit alt birimlerini parçalayarak uzaklaştıran ve mukusun bütünlüğünü bozan enzimlerdir. BV'ye neden olan bakterilerden *Gardnerella vaginalis*, *Bacteroides* ve *Prevotella*' da siyalidaz enzim aktivitesi olduğu araştırmacılar tarafından belirtilmektedir. Yapılan bir araştırmada BV'li hastaların %84'ünde siyalidaz aktivitesi gösterilmiştir. Siyalidaz enziminin BV için önemli bir virülans faktörü olduğu araştırmacılar tarafından ileri sürülmektedir [48, 49, 50].

2.5.2. Glikozidazlar

Bu enzimler, mukus yapısındaki oligosakkaritleri parçalayan enzimlerdir. Yapılan bir araştırmada sağlıklı bireylerde glikozidaz aktivitesinin %15 civarında olduğu BV'li hastalarda ise bu oranın %75'lere kadar çıktığı ortaya konmuştur. BV'ye neden olan organizmalardan *Mycoplasma hominis* ve *Mobiluncus* türlerinin glikozidaz aktivitesi olduğu araştırmacılar tarafından gösterilmiştir. Araştırmacılar siyalidazlarla birlikte glikozidazların da BV'de önemli bir virülans faktörü olduğunu belirtmektedirler [48, 51].

2.5.3. Proteazlar

Proteazlar mukus proteinlerinin üç boyutlu yapısını bozan enzimlerdir. Yapılan araştırmalarda *Ureaplasma urealyticum*'da proteazlardan biri olan proteinaz enzim aktivitesi olduğu gösterilmiştir. Fakat araştırmalar sonucu proteinaz enziminin BV patojenitesinde siyalidaz ve glikozidazlar kadar önemli yer tutmadığı ortaya konmuştur [49, 51].

2.5.4. Musinaz

Musinaz mukus yapısını bozan bir enzimdir. Araştırmacılar *Mobiluncus hominis*' de ve *Mobiluncus* türlerinde musinaz aktivitesi olduğunu göstermişlerdir [48]. Fakat yapılan araştırmalar sonucunda proteazlar gibi musinazın da BV patojenitesinde önemli bir yeri olmadığı araştırmacılar tarafından ortaya koymuştur [49].

2.6. Bakteriyel vajinozis Tanımı ve Tarihçesi

Bakteriyel vajinozis, vajinit tipleri içinde sık karşılaşılan enfeksiyon tiplerinden biridir. Bu enfeksiyon, vajinal florada baskın olarak bulunan Laktobasil türlerinin azalması sonucu ortama çeşitli anaerobik bakterilerin ve mikoplazmaların hakim

olmasıyla ortaya çıkmaktadır [52]. Bakteriyel vajinozis ilk olarak, *Trichomonas vaginalis*'in ve mayaların oluşturduğu vajinit tiplerinden farklı olması nedeniyle non-spesifik vajinit olarak adlandırılmıştır [53]. Daha sonra bu enfeksiyonun çeşitli anaerobik bakteriler tarafından oluşturulduğu tespit edilince ismi anaerobik vajinozis olarak değiştirilmiştir [54]. Son olarak bir vajinit çeşidi olmasına rağmen iltihabi değişikliklerin görülmemesi, lökosit bulundurmaması ve bakteriler tarafından oluşturulması nedeniyle bakteriyel vajinozis olarak adlandırılmıştır [55]. İnsan vajinal florasında baskın olarak Laktobasiller bulunmaktadır. Bu bakteriler epitel hücrelerin glikojenini kullanarak laktik asit üretmekte ve vajinal ortamın pH'sını 4-4.5 gibi asidik bir değerde tutmaktadır. Ayrıca salgıladıkları hidrojen peroksit ve bacteriosin gibi maddelerle vajinal florada diğer bakterilerin üremesini engellemektedirler [56]. Çeşitli nedenlerle Laktobasil sayısındaki azalma BV etkeni organizmalar için fırsat yaratmakta ve bu organizmalar enfeksiyona neden olmaktadır. Laktobasil sayısının azalma nedenleri arasında antibiyotik kullanımı, vajinal fitil kullanımı, hormonal değişiklik, partner sayısının çok olması, *Trichomonas vaginalis* ile enfekte olmak ve sigara kullanımı gibi nedenler yer almaktadır [57, 58]. Bunun yanı sıra 1997 yılında yapılan bir araştırmada vajinal laktobasillerin bakteriyofajlar tarafından enfekte olarak lizise olabileceği, dolayısıyla sayılarının azalabileceği ortaya konmuştur. Yapılan deneyde vajinal floradaki laktobasillerden iki tip ılımlı bakteriyofaj izole edilmiştir. Araştırmacılar bu fajların besinler yoluyla barsaklara ulaştığını ve daha sonra ürogenital yoldan bulaş ile vajinaya geçtiğini ileri sürmektedir. Ayrıca partner sayısına bağlı olarak da kişiden kişiye aktarılabilirliğini düşünmektedirler [58].

Bakteriyel vajinozise neden olan en önemli organizmalar arasında en çok çalışılmış bakteri türü *Gardnerella vaginalis*'tir. Bunun yanı sıra *Bacteroides*, *Mobiluncus*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Peptostreptococcus* ve *Atopobium vaginae* gibi anaerobik bakterilerin de bakteriyel vajinozis de rol aldığı literatürde yer almaktadır. [59]. Bakteriyel vajinozis teşhisi için Amsel kriterleri kullanılmaktadır. Bu kriterler; (1) vajinal pH'nın 5.5' tan büyük olması, (2) gri-beyaz homojen bir akıntı,(3) pozitif KOH (Whiff) testi ve (4) clue cell tipi hücrelerin görülmesidir. Bu kriterlerden üçünün varlığı bakteriyel vajinozis tanısı için yeterlidir [4].

Bakteriyel vajinozis fertil dönemdeki kadınların yanı sıra gebelerde de çeşitli komplikasyonlara neden olmaktadır. Yapılan çalışmalarda pelviğin iltihabi hastalığı (PID), endometiritis, düşük ağırlıklı doğum, erken doğum, abortus, amniyon sıvısının iltihabi ve erken membran yırtılması gibi komplikasyonlara neden olduğu bildirilmiştir [52, 60]. Bakteriyel vajinozisin HIV ile ilişkili olduğu da bildirilmiştir. Yapılan bir araştırmada *G. vaginalis*' in monositlerde ve T-lenfositlerde HIV ekspresyonunu arttırdığı ortaya konmuştur [61].

2.7. Bakteriyel Vajinozise Neden Olan Organizmalar

2.7.1. *Gardnerella vaginalis*

Gardnerella vaginalis ilk olarak 1953 yılında Leopold tarafından prostatlı erkeklerin ve servisitli kadınların ürogenital siteminden izole edilmiştir. Bu gözlemlerde küçük, pleomorfik, çubuk şeklinde bakteriler izole edildiği bildirilmiştir ve bu bakterinin *Haemophilus* cinsi üyesi olabileceği bildirilmiştir. Daha sonra 1955 yılında Gardner ve Duker bu mikroorganizmayı BV' li hastalardan izole etmiş ve *Haemophilus vaginalis* olarak adlandırmıştır [62]. Fakat yapılan araştırmalar sonucu *H. vaginalis*'in hemin, nikotainamid adenin dinükleotid (NAD) gibi molekülleri içermediği anlaşılınca bu cinsten çıkarılarak gram pozitif bir bakteri cinsi olan *Corynebacterium* cinsine dahil edilmesi gerektiğine karar verilmiştir ve ismi *Corynebacterium vaginale* olarak değiştirilmiştir. Greenwood ve Pickett [63] yaptıkları araştırmalar sonucunda bu mikroorganizmanın *Corynebacterium* cinsinin özelliklerini taşımadığını ortaya koymuşlardır ve bu bakteriyi yeni bir cins (*Gardnerella*) içine dahil etmişlerdir. İsmi ise Gardner ve Duker'a hitaben *Gardnerella vaginalis* olarak değiştirmişlerdir. *Gardnerella vaginalis*, gram değişken, pleomorf, kapsüllü, hareketsiz bir mikroorganizmadır [64].

Gardnerella vaginalis gram pozitif bakterilere özgü duvar yapısına sahiptir. Yani hücre zarının üstünde zara sıkıca bağlı kalın bir peptidoglikan tabaka bulunmaktadır. Fakat gram pozitif bakterilerden farklı olarak duvar yapısında teikoik asit bulundurmamaktadır. Bunun yanı sıra gram negatif bakterilere özgü dış zar ve LPS de *G. vaginalis*' te bulunmamaktadır. Fakat gram boyama metodunda gram negatif bakteriler gibi kırmızı renkte boyanmaktadır. Bu yüzden gram değişken olarak adlandırılmaktadır [62, 65].

Gardnerella vaginalis, katalaz ve oksidaz negatiftir. Dekstrin, fruktoz, galaktoz, glukoz, maltoz, mannoz, riboz ve nişastayı metabolize edebilir. Bunun yanı sıra laktoz, sukroz ve ksilozu da fermente edebildiği bilinmektedir. *G. vaginalis*'in fermantasyon ürünü asetik asittir. Fakültatif anaerobik bir organizmadır. Optimum yaşam sıcaklığı 35-37C° , yaşam pH'sı ise 6-6.5'tur. *G. vaginalis* pH 4'te yaşayamaz [63]. Ayrıca demir bağlama özellikleri vardır. Demir tutma işini laktoferrin bağlayan proteinler ve siderophore adı verilen özel proteinlerle sağlamaktadırlar [39].

Gardnerella vaginalis, bakteriyel vajinoziste en önemli ve baskın olan organizmadır. Fakat sağlıklı kadınlardan da bu organizmayı izole etmek mümkündür. Yapılan bir araştırmada BV' li kadınların yaklaşık %87.5'undan *G. vaginalis* izole edilirken sağlıklı bayanların da %26.4'den *G. vaginalis* izole edilebilmiştir [66]. *G. vaginalis* clue cell oluşumunda rol alan en önemli bakteridir.

2.7.2. Mobiluncus türleri

Mobiluncus türleri kıvrık çubuk şeklinde bakterilerdir. Bu kıvrık bakteriler vajinal sekresyondan ilk olarak 1985 yılında izole edilmişlerdir ve bu bakterilere *Vibrio mulieris* adı verilmiştir [67]. Daha sonra Spiegel ve arkadaşları [67] yaptıkları araştırma sonucu bu bakterileri yeniden isimlendirip *Mobiluncus* cinsine dahil etmişleridir. *Mobiluncus* türleri zorunlu anaerob, gram değişken, kıvrık, sporsuz çubuk şeklinde bakterilerdir. Gram değişken olarak kabul edilmelerinin sebebi, tıpkı *Gardnerella vaginalis*' te olduğu gibi gram boyam metodunda kırmızı olarak boyanmalarına rağmen aslında gram pozitif duvar yapısına sahip olmalarıdır. Fermentasyon ürünleri suksinik asit ve asetik asittir. Optimal büyüme pH'ları 5.5-6.5'tur. 3 adet kamçıya sahiptirler. Oksidaz ve katalaz negatiftirler. İki türü vardır. Bunlar *Mobiluncus curtisii* ve *Mobiluncus mulieris*'tir. İki türünde genel özellikleri aynı olmakla birlikte *Mobiluncus curtisii* daha küçük ve kısadır [68, 69]. Bu iki suş uzun form ve kısa form olarak da adlandırılmaktadır. Fakat yapılan araştırmalarda bu iki türün içinde farklı özellikler gösteren suşlar da bulunmuştur. Bu suşlara atipik uzun formlar ve atipik kısa formlar denmektedir. Bu yüzden araştırmacılar sınıflandırma için iki türün yeterli olmadığını düşünmektedir [70].

Mobiluncus türleri BV'li kadınların vajinal florasının karakteristik bir üyesidir. Nerdeyse tüm BV'li kadınlardan *Mobiluncus* türleri izole edilebilmektedir. [71, 72].

Ayrıca yapılan çalışmalarda *Mobiluncus* türlerinin epitel hücrelere yapışarak clue cell meydana getirdiği ortaya konmuştur [73].

2.7.3. Bacteroides Türleri

Bacteroides cinsi organizmalar gram negatif, sporsuz, zorunlu anaerobik bakterilerdir. Bazı türler hareketli bazıları ise hareketsizdir. Bu bakteriler basil şeklinde olmalarına rağmen bir kısmı kokobasil şeklinde de görülebilir. Bazılarında kamçı bulunabilir. Karbohidrat, hemin, B12, amonyak, karbondioksit ve sülfidin olduğu besi yerlerinde kolayca gelişebilirler. Polisakkaritleri metabolize ederek karbon kaynağı olarak kullanabilirler. Metabolik ürünleri asetik asit, laktik asit, suksinik asit, propiyonik asit, izobutirik asit, izovalerik asit ve formik asittir. Nitrojen gereksinimleri minimumdur [74, 75]. *Bacteroides* türleri % 20 safra bulunan besiyerinde üreme özelliklerine göre iki ana gruba ayrılırlar.

1- Safraya Dirençli Bacteroides türleri

a. B. fragilis grup: *B. fragilis*, *B. distasonis*, *B. ovatus*, *B. thetaiotaomicron*, *B. uniformis*, *B. vulgatus*, *B. caccae*, *B. stercois* ve *B. merdae*

b. Diğerleri: *B. eggerthii* ve *B. splanchnicus*

Bacteroides fragilis grubu üyeleri kapsüle sahiptirler ve sukrozu fermente edebildikleri için diğer iki bakteriden bu özellikleriyle ayrılmaktadırlar. *B. fragilis* grubu bakteriler hareketsiz, soluk boyanan çubuk şeklinde bakterilerdir. Safraya dirençli bakteriler, beta laktamaz aktivitesi nedeniyle penisilin ve türevlerine karşı dirençlidirler. Bu grup bakteriler barsak florasının elemanıdır fakat kadın genital organlarından da izole edildiği gözlenmiştir [76, 77].

2- Safraya dirençsiz Bacteroides Türleri: Bu grupta bulunan bakteriler pigment bulundurma durumlarına göre ikiye ayrılırlar.

a. Pigmentli Bacteroides Türleri: Pigment renkleri tuğla kırmızısı, kahverengi ve siyahtır. Önceleri bu grupta *B. asaccharolyticus*, *B. bivius*, *B. gingivalis*, *B. intermedius* ve *B. melaninogenicus* yer almaktaydı. Fakat yapılan araştırmalar sonunda bu bakteriler yeniden sınıflandırılarak *Prevotella* ve *Porphyromonas* cinsleri içine dahil edilmiştir. Bu grup bakteriler ağız, burun, gastrointesitnal ve genital mukozanın normal flora elemanlarıdır.

b. Pigmentsiz *Bacteroides* Türleri: Bu grupta *B. gracilis*, *B. ureolyticus*, *B. capillosus*, *B. coagulans*, *B. forsythus*, *B. galacturonicus* ve *B. pectinophilus* türleri bulunmaktadır. Bu grupta bulunan üyeler % 20 oksijenin bulunduğu normal atmosfer koşullarında yaşayamayan fakat canlılığını devam ettirebilmek için % 5 oksijene ihtiyacı olan mikroaerofilik bakterilerdir. *B. ureolyticus* urogenital boşluktan izole edilebilmektedir ayrıca penisiline karşı dirençsizdir. Bunun yanı sıra *B. coagulans* da urogenital boşluktan izole edilen diğer bir türdür. Diğer türler ise ağız boşluğunda ve barsaklarda yer almaktadırlar [78, 79].

G. vaginalis ve *Mobiluncus* türleri ile birlikte *Bacteroides* türlerinin de clue cell oluşumunda rol aldığı yapılan araştırmalarda bildirilmiştir [73].

2.7.4. *Mycoplasma hominis* ve *Ureaplasma urealyticum*

Mikoplazmalar, *Mollicutes* sınıfı içerisinde yer alan hücre duvarı olmayan mikroorganizmalardır. Gram pozitif bakterilerden evrimleştiği düşünülmektedir. Mikoplazmalar bağımsız yaşayan en küçük organizmalardır. Büyüklükleri 125- 205 nm kadardır. Hücre duvarı yerine sterol içeren üç katlı birim zarı vardır. Hücre duvarının bulunmaması nedeniyle penisiline karşı dirençlidirler. Sıvı besi yerine ekildiklerinde çeşitli formlarda gelişebilirler. Katı besi yerine ekildiklerinde ise protoplasmik kütleler halinde büyürler ve şekilleri çabuk bozular. Mikoplazmalar genelde enerji kaynağı olarak glukozu ve arjinini kullanmaktadırlar fakat *Ureaplasma* türleri üreyi metabolize etmektedirler. İnsan vücudundan mikoplazma cinsine ait 13 tür izole edilmiştir. Bunlar; *Mycoplasma hominis* (*M. hominis*), *Mycoplasma genitalium*, *Mycoplasma orale*, *Mycoplasma fermentas*, *Mycoplasma salivarium*, *Mycoplasma primum*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Mycoplasma buccale*, *Mycoplasma pirum*, *Mycoplasma faucium*, *Mycoplasma lipophilum*, *Mycoplasma spermatophilum*, *Mycoplasma penetrans* ve *Ureaplasma urealyticum* (*U. urealyticum*)'dur [74, 80].

M. hominis ve *U. urealyticum* normal vajinal flora üyesidir. Yapılan bir araştırmada *M. hominis* sağlıklı bireylerin %7.9'dan bu organizma izole edilebilmiştir. Ancak BV'li hastalarda bu oranın %60'a çıktığı gözlenmiştir [81]. Başka bir araştırmada ise BV'li hastalarda *U. urealyticum* kolonizasyonunun iki katına çıktığı ve konsantrasyonunun ise yüz kat arttığı belirtilmektedir [82].

2.7.5. *Prevotella* Türleri

Prevotella türleri gram negatif, zorunlu anaerobik, sporsuz, hareketsiz, pleomorfik çubuk şeklindeki bakterilerdir. Bu bakterilerin gelişmeleri için hemin ve menadione gerekli molekülleridir. Glukozu fermente ederek enerji gereksinimlerini karşılarlar. Fermantasyon ürünleri asetik asit ve suksinik asittir. Proteolitik aktiviteleri bulunmaktadır [83]. Pigment bulundurma durumlarına göre iki gruba ayrılırlar.

1- Pigmentli *Prevotella* türleri: Bu grupta *P. denticola*, *P. loezcheii*, *P. melaninogenica*, *P. tanneriae*, *P. intermedia* ve *P. nigrescens* yer almaktadır. Bu grupta bulunan bakteriler oral ve vajinal mukozanın normal flora elemanlarıdır.

2- Pigmentsiz *Prevotella* türleri: Bu grupta ise *P. bivia* ve *P. disiens* yer almaktadır. Bu türler genital sistem enfeksiyonlarında diğer bakterilerle birlikte vajinal mukozadan izole edilebilmektedir [74,84]

2.7.6. *Porphyromonas* Türleri

Porphyromonas türleri gram negatif, zorunlu anaerobik, sporsuz, basil şeklindeki organizmalardır. İnsan vücudundan izole edilen türler katalaz negatif organizmalardır. Bu türler; *P. asaccharolytica*, *P. endodontalis* ve *P. gingivalis*'tir. Hayvanlardan izole edilen türler ise katalaz pozitifdir. Bu türler ise; *P. canatis*, *P. circumdentaria* ve *P. salivosa*'dır. Bunun yanı sıra sadece köpeklerden izole edilen *P. cangigivalis*, *P. cansulci*, *P. creviaricans* ve *P. gingivicanis* türleri de bulunmaktadır. İnsanlardan izole edilen türler mukozal yüzeylerin normal flora elemanı olmakla beraber birçok enfeksiyon varlığında da izole edilebilmektedirler. Bu türler içinden *P. asaccharolytica* normal vajinal flora elemanıdır. Ayrıca insanlardan izole edilen *Porphyromonas* türleri penisiline karşı dirençsizdirler [74, 84]

2.7.7. *Peptostreptococcus* Türleri

Peptostreptococcus türleri gram pozitif, zorunlu anaerobik, sporsuz kok şeklindeki bakterilerdir. Bu bakteriler birbirlerine tutunarak zincir şeklinde yapılar meydana getirirler. Enerji kaynağı olarak glukozu kullanırlar. Fermantasyon ürünleri çok çeşitlidir. Nitrojen kaynağı olarak aminoasitleri kullanırlar. Katalaz aktiviteleri yoktur. Bu bakteriler deri, ağız, barsak ve vajinal mukozanın normal flora elemanlarıdır. *P. asaccharolyticus*, *P. magnus*, *P. micros*, *P. prevotti* ve *P. tetradius* vajinal mukozada bulunan *Peptostreptococcus* türleridir [77, 78].

2.7.8. *Atopobium vaginae*

Bu bakteri gram pozitif, fakültatif anaerob, hareketsiz, elips şeklinde bir bakteridir. Bir araya gelerek kısa zincir şeklinde yapılar oluşturmaktadırlar. Bu bakteri daha önceleri *Lactobacillus* cinsi içerisinde yer almaktaydı fakat yapılan araştırmalarla bu cins içinden çıkartılarak *Atopobium* cinsine dahil edilmiştir. *Atopobium vaginae* laktik asit üreticisidir. Bu bakteri inidol negatif bir organizmadır. Normal vajinal floranın bir üyesidir [85]. Fakat yapılan araştırmalar sonucu bu bakterinin BV etkeni olduğu ortaya konulmuştur. Araştırmacılar BV'li hastaların %55'inden bu mikroorganizmayı izole etmişlerdir [86].

2.8. BV'nin Mikroskopik ve Klinik Tanı Kriterleri

2.8.1. Mikroskopik (Sitolojik) Tanı Kriterleri

2.8.1.1. Clue Cell Hücrelerinin Görülmesi

Clue cell hücreleri ilk olarak 1955 yılında Gardner ve Duker tarafından isimlendirilmiştir. Bu hücreler üzeri yoğun olarak *Gardnerella vaginalis* ve daha az oranda *Bacteroides* ve *Mobilincus* türleri ve diğer bakterilerin bulunduğu skuamoz epitel hücreleridir. [87]. Normal epitel hücrelerinin net sınırları vardır ve granüler yapı göstermezler fakat clue cell hücrelerinin sınırları epitel hücreleriyle adezyon yapmış bakteriler yüzünden net değildir ve bakterilerle kaplı görülmektedir [88]. PAP yaymalarının incelemesi sonucu BV tanısı verebilmek için yaymada bulunan hücrelerin en az % 20'sinin clue cell tipi hücre olması gerekmektedir [89]. Ayrıca üzeri Laktobasillerle kaplı skuamoz epitel hücrelerine false clue cell denmektedir ve tanı verirken bu hücrelere dikkat edilmeli clue cell tipi hücrelerle karıştırılmamalıdır [87].

2.8.1.2. Serbest Kok ve Kokobasil görülmesi

Clue cell hücrelerinin yanı sıra epitel hücrelerinin arasına dağılmış serbest kok ve kokobasillerin gözlenmesi BV tanı kriterleri arasında yer almaktadır. Bu serbest haldeki kok ve kokobasiller simirde bulutsu bir görünüm oluşturmaktadır [5].

2.8.1.3. Polimorf nükleer lökosit (PMNL) görülmemesi

PMNL' ler eozinofiller ve bazofiller ile birlikte granülositler olarak adlandırılırlar. Bu hücreler enfeksiyonlara karşı savunmada ilk olarak görev alan hücrelerdir. Bu hücreler bakterilerden salınan çeşitli kimyasalları tanıyarak onlara doğru hareket etmekte ve bakterileri fagosite etmektedir. PMNL'nin bu hareketi kemotaksis

olarak adlandırılmaktadır [90, 91]. Ancak BV'li hastaların vajinal sıvı örneklerinde PMNL'lerin çok az olduğu ya da hiç bulunmadığı belirtilmektedir [57, 92]. Hücre kültürü ile yapılan in vitro bir çalışmada BV- ilişkili mikroorganizmaların ürettikleri organik asitlerin monositik hücre hattı üzerine etkileri incelenmiştir. Bir organik asit türü olan süksinik asitin monositik hücrelerin kemotaksisini yüksek oranda inhibe ettiği gözlenirken, asetik asitin bu özelliğinin daha az olduğu belirtilmiştir. Aynı çalışmada özellikle *Prevotella* ve *Mobilincus* türlerinin çok miktarda süksinik asit ve asetik asit üretebildiğine dikkat çekilmiştir [93]. BV-ilişkili mikroorganizmaların ürettikleri organik asitler ile PMNL kemotaksisini inhibe etmelerinin yanında, bu organizmaların PMNL'leri lizis edebileceği de belirlenmiştir. Rottini ve arkadaşlarının [94] bu konuyla ilgili yaptıkları çalışma ile *Gardnerella vaginalis* tarafından üretilen sitolitik toksinin nötrofilleri lizise uğratabileceğini tespit etmişlerdir. Sitolojik tanı kriterleri arasında laktobasil azalması ile birlikte PMNL azalması da yer almaktadır [54]. Araştırmacılar epitel hücre başına bir PMNL'den fazla PMNL düşüyorsa o hastada başka bir enfeksiyon aranması gerektiğini belirtmektedir [95].

2.8.1.4. Laktobasillerin Ortamda Bulunmaması

Normal vajinal florada baskın olan mikroorganizmalar Laktobasillerdir. İlk olarak 1984 yılında Döderlein tarafından izole edilmiştir ve bu yüzden Döderlein basilleri olarak da adlandırılmaktadırlar [96]. Sağlıklı fertil dönemdeki bir kadının vajinal florasında baskın tür *Lactobacillus acidophilus* ve *Lactobacillus fermentum*' dur. Bu türün yanı sıra *L. crispatus*, *L. iners*, *L. gasseri*, *L. jenseii*, *L. gallinarum*, *L. brevis*, *L. plantarum*, *L. casei*, *L. delbureckii*, *L. salivarius* ve *L. vaginalis* de vajinal florada yer alan diğer Laktobasil türleridir [56, 97]. Laktobasiller epitel hücrelerdeki glikojeni kullanarak laktik asit üretmekte ve ortamın pH'sını asidik tutmaktadırlar. Bunun yanı sıra ürettikleri H₂O₂ ve Bacteroisin gibi bakterileri öldürücü maddelerle vajinal florayı patojen mikroorganizmalara karşı korumaktadırlar [98]. Yapılan bir araştırmada sağlıklı bireylerin %96'sından H₂O₂ üreten Laktobasil suşları izole edilirken BV'li hastaların yalnızca %6'sından bu suşlar izole edilebilmiştir [99]. BV'li hastalarda Laktobasil sayısı azalmakta ve yerini anaerobik bakteriler almaktadır [52].

2.8.2. Klinik Kriterler

2.8.2.1. Balık Kokusu Tarzında Akıntı ve Akıntının Tipi

Sağlıklı fertil dönemdeki kadınlarda ovulasyonda fazında görülen fizyolojik akıntı dışında her hangi bir akıntı gözlenmez. Serviks yüzeyinde gözlenen her hangi bir akıntı enfeksiyon varlığını belirtmektedir. Her enfeksiyonda gözlenen akıntı tipi farklıdır. BV'li kadınlarda ise homojen gri bir akıntı gözlenmektedir [55]. Bu akıntı balık kokusu tarzındadır. Kokunun amin varlığından kaynaklandığı bilinmektedir. Yapılan araştırmalarda BV'li hastaların vajinal sıvısında metilamin, izobutilamin, putreskin, kadeverin, histamin, tiyramin ve fenitilamin olmak üzere yedi tip amin tespit edilmiştir. Aminlerin sebep olduğu bu koku vajinal sıvı örneği üzerine %10'luk KOH damlatılarak (Whiff testi) ortaya çıkmaktadır [100].

2.8.2.2. Değişmiş Vajinal pH Değeri

Sağlıklı bireylerde vajinal floranın pH değeri 4- 4.5 arasındadır. BV'li hastalarda ise vajinal floranın pH'sı 4.5'tan daha büyüktür. pH ölçümü kolay ve ekonomik bir test olmasına rağmen güvenilir bir test değildir. Çünkü vajinal pH yıkama, kanama, cinsel ilişki gibi nedenlerle değişebilmektedir [92].

2.9. BV'nin Tanı Metodları

2.9.1. Sitolojik Metodlar

2.9.1.1. Papanicolaou Boyama Metodu

Bv tanısında en sık kullanılan yöntemlerden biri papanicolaou boyama metodu ile boyanmış serviko- vajinal yaymaların (PAP simir) mikroskopik olarak incelenmesidir. BV tanısı vermek için kullanılan sitolojik kriterler; ipucu hücreleri, serbest kok ve kokobasillerin görülmesi, laktobasil sayısında azalmanın tespit edilmesi ve PMNL' nin görülmemesidir [5]. Papanicolaou boyama yöntemi tercih edilen bir tanı metodudur çünkü rutinde kolay uygulanabilen ucuz bir yöntemdir [101].

2.9.1.2. Taze İnceleme

Taze inceleme metodun da serviko-vajinal örnekler lama yayılır ve daha sonra üzerine birkaç damla %0,9'luk NaCl damlatılarak ışık mikroskopunda incelenir. İnceleme 40'lık objektif kullanılarak yapılır ve ipucu hücreleri tespit edilir. Mikroskopta görülen hücrelerin %20'sinden fazlasının ipucu hücresi olması gerekmektedir [4].

2.9.2. Mikrobiyolojik Metodlar

2.9.2.1. Gram Boyama

Bakteriyel vajinozis yönteminde gram boyama yöntemi ilk olarak Spigiel ve arkadaşları tarafından kullanılmıştır. Yapılan çalışmalarda Laktobasil, gram pozitif, gram negatif ve kıvrık basiller arasındaki ilişki değerlendirilmiştir. Bunun sonucunda BV tanısında bu ilişkinin kullanılabileceği ortaya konmuştur [102]. Daha sonra Nugent ve arkadaşları gram boyama metodunda bir skor sistemi geliştirmişlerdir. Bu sistemde gram pozitif basil, gram değişken/negatif kokobasil ve gram değişken/negatif kıvrık basil morfortipleri değerlendirilmiştir. Her morfortipin simirde bulunma çokluğuna göre o morfotipe sıfırdan dörde kadar skor verilmiştir. Bu skor sonucu yediden büyük ise hastaya BV teşhisi konmaktadır [103]. Yapılan araştırmalarda gram boyama metodunun yüksek derecede hassas ve spesifik olduğu gösterilmiştir [71]. Fakat deneyim gerektiren zahmetli bir işlem olduğu için rutin incelemede tercih edilmemektedir.

2.9.2.2. BVBlue Test Metodu

BVBlue test son yıllarda geliştirilmiş bir yöntemdir. Bu yöntemin esası vajinal akıntıda siyalidaz enzim aktivitesinin tespit edilmesine dayanmaktadır. BV' ye neden olan organizmalardan *Gardnerella vaginalis*, *Mobiluncus* ve *M. hominis*'in siyalidaz aktivitesine sahip olduğu gösterilmiştir. Dolayısıyla siyalidaz aktivitesinin gözlenmesi bu organizmaların varlığıyla ilişkilendirilmektedir. Yöntem basit ve kısa sürmektedir. Serviko-vajinal sıvı örneğinin olduğu fırça BVBlue kitinin olduğu tüpe alınmakta ve 10 dakika 37 C° da inkübe edilmektedir. Daha sonra birkaç damla BVBlue solusyonu damlatılmakta ve renk değişimi gözlenmektedir. Mavi ve yeşil renk artmış siyalidaz enzim aktivitesini yani pozitif sonucu göstermekte sarı renk ise negatif sonucu göstermektedir [104]. BVBlue test hastaya zaman kazandırmaktadır fakat birden çok vajinal enfeksiyon varlığında yanlış sonuç verebilmektedir. Ayrıca yapılan bir araştırmada yüksek derecede hassas olduğu gösterilse de özgüllüğünün PAP simir ve gram boyama kadar yüksek olmadığı gösterilmiştir [105].

2.9.2.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) Tekniği

Polimeraz zincir reaksiyonu, elde etmek istediğimiz DNA dizilerinin doğrudan çoğaltılmasını sağlayan bir tekniktir. PCR yöntemiyle BV'ye neden olan

mikoplazma gibi çok küçük organizmalar kolayca tespit edilebilir. Bu yöntem ile BV teşhisi yapmak için, vajinadan alınan sıvı örneği serum fizyolojik ile muamele edilir ve santrifüj edilir. Daha sonra hücre peleti distile suyla sulandırılıp tekrar santrifüj edilir. Son olarak PCR karışımı eklenir ve hedef DNA'nın çoğaltılması için denatürasyon, annealing ve polimerizasyon işlemlerini içeren inkübasyon aşamasına geçilir [106]. Yapılan bir araştırmada PCR tekniğinin gram boyama ile yüksek derecede doğru orantılı olduğu gösterilmiştir. Bu araştırmada PCR tekniğinin hassaslığı %78.4 ve özgüllüğü ise % 95.6 olarak bulunmuştur [107]. Fakat pahalı ve uzun bir işlem olduğu için rutin olarak kullanılmamaktadır

2.9.2.4. *Gardnerella vaginalis* Kültürü Metodu

BV teşhisinde kullanılan diğer yöntemlerden bir diğeri de *Gardnerella vaginalis* kültürüdür. BV etkeni organizmalar arasında en sık görülen bakteri türü *G. vaginalis*'tir. Dolayısıyla teşhis için bu organizmanın kültürünün yapılabileceği düşünülmüştür. Fakat bu yöntem hassas olmasına rağmen özgül bir yöntem değildir [71]. Çünkü *G. vaginalis* BV' li hastaların hepsinde gözlenmekle birlikte sağlıklı kadınların %50'sinden de izole edilebilmektedir [53]. Bu nedenle, *G. vaginalis* kültür tekniği BV tanısında tercih edilmemektedir.

2.9.2.5. Gaz- Sıvı Kromatografi Metodu

BV etkeni mikroorganizmalar diğer organizmalar gibi metabolizma ürünü olarak organik asit üretmektedirler. Bu organizmalara özgü organik asitler de gaz- sıvı kromatografi tekniği ile tespit edilerek B.V tanısında kullanılabilir. Laktobasiller laktik asit üreticileridir. Bunun yanı sıra *Gardnerella vaginalis*'in asetik asit, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Bacteroides* ve *Mobiluncus*'un suksinik asit, *Peptostreptococcus*'un bütrik asitle birlikte asetik asit ürettiği bilinmektedir. BV' li hastaların vajinal sıvılarında suksinik asit miktarı artarken laktik asit miktarı azalmaktadır. BV' li hastalardan alınan vajinal sıvı örneklerine distile su ya da tuzlu suya alınarak kromatografi tekniği uygulanır. Kromatografi sonucunda suksinik asitin laktik asite oranı 0.4'e eşit veya büyükse hastaya bakteriyel vajinozis tanısı konur [92]. Yapılan bir araştırmada gaz-sıvı kromatografisinin %78 oranında hassas ve %81 oranında özgül olduğu bulunmuştur. Aynı araştırmada gram boyama ve *G. vaginalis* kültür yöntemiyle kıyaslanmış ve *G. vaginalis* kültür

yönteminden daha iyi olduğu fakat gram boyama tekniği kadar özgül olmadığı belirtilmiştir [71].

2.10. Bakteriyel Vajinozis Tedavi Yöntemleri

Bakteriyel vajinozisin tedavisi için Centers for Disease Control and Prevention (CDC) merkezinin belirlediği tedavi şeklinde göre hastalara 7 gün boyunca günde iki kez 500 mg metronidazole, metronidazole jel ve clindamycin krem önermektedir [57]. Yapılan bir araştırmada hastalara tek doz (2 gr) metronidazole ve 7 günlük 500 mg metronidazole uygulaması kıyaslanmış ve tek günlük doz sonrası hastalarda %83' oranında iyileşme gözlenirken 7 günlük tedavi sonrası hastaların %97' sinin iyileştiği gözlenmiştir. Ayrıca farklı bir çalışmada iki grup hasta seçilmiş ve birinci grup 7 günlük metronidazole tedavisi görürken ikinci grubun eşlerine de aynı tedavi uygulanmıştır. Fakat iyileşme oranları arasında bir fark bulunamamıştır [108]. Yapılan farklı bir araştırmada ise metronidazole tedavisi sonrası tekrarlayan BV şikayetiyle kliniğe gelen bir hastaya, bir hafta boyunca günde 2 kez 500 mg tinidazole uygulanmış ve hastanın 10 ay boyunca BV'sinin nüksetmediği tespit edilmiştir. Araştırmacılar tinidazole' ün metronidazole'den daha etkili olduğunu ileri sürmektedirler [109].

Yapılan bazı çalışmalarda fermente süt ürünlerinin içerdiği Laktobasil suşları nedeniyle vajinal pH'yı asidik tutmaya yardım ettikleri bildirilmiştir. Fakat çoğu fermente süt ürünü *Lactobacillus acidophilus* içermemektedir [110]. Üstelik yoğurttan elde edilen *Lactobacillus* suşları en az yapışma gösteren suşlardır [111]. Son zamanlarda ticari olarak satılan *Lactobacillus* suşlarının BV tedavisinde kullanılması ortaya atılan fikirlerden biridir fakat yapılan bir araştırmada metronidazole tedavisine ek olarak liyofilize edilmiş *Lactobacillus acidophilus* takviyesi alan BV' li hasta ile sadece metronidazole tedavisi alan hasta arasında iyileşme açısından bir fark bulunamamıştır [110].

3. YÖNTEM VE GEREÇLER

Çalışma kapsamında Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'na rutin kontrol için gelen ve gebeliği olmayan 23- 81 yaş arası 200 hasta değerlendirilmiştir. Hastalardan serviko-vajinal örnekler alınmadan önce yaş, son adet tarihi, gebelik ve düşük sayısı, geçirdiği jinekolojik operasyonlar, rahim içi araç kullanımı, akıntı ve kaşıntı gibi jinekolojik şikayetleri ile ilgili bilgiler alınmış ve bilgisayara kaydedilmiştir. Hekim tarafından alınan serviko-vajinal örnekler sitolojik inceleme için Papanicolaou boyama yöntemine göre boyanmıştır. Elektron mikroskopik inceleme için örnekler %2'lik glüteraldehit içine aktararak takibe alınmıştır. Tüm değerler istatistiksel analiz için kaydedilmiştir. Çalışmamızın istatistiksel analizleri SPSS (Statistical Package of Social Sciences) paket 15.0 programındaki "chi-square" ve "Fisher's Exact Test" kullanılarak yapılmıştır. Anlamlılık sınırı $p < 0.05$ kabul edilmiştir.

3.1. Örneklerin Alınması

Hastalardan sitolojik fırça (cytobrush) yardımıyla alınan vajinal sıvı örnekleri hem sitolojik hem de elektron mikroskopik inceleme için kullanılmıştır. Sitolojik inceleme için cytobrush ile alınan akıntı örneği lamlara tek yönlü sürülerek yayma hazırlanmış ve havada kurutulmadan %96'luk etil alkol içine alınmıştır. Fırça ise elektron mikroskopik inceleme için içine %2'lik soğuk glüteraldehit olan santrifüj tüpüne alınmış ve örneğin glüteraldehite aktarılması sağlanmıştır. Daha sonra fırça çıkarılarak santrifüj tüpü içinde buz olan köpük içine konmuştur.

3.2. pH ölçümü

Sitolojik fırça ile hastadan alınan jinekolojik akıntı örnekleri 1-14 arası skalaya sahip olan pH indikatör kağıdına (Merck) sürülmüş ve bir süre beklendikten sonra pH indikatör kağıdı üzerinde renk değişimine karşılık gelen pH değerleri her hasta için kaydedilmiştir.

3.3. Örneklerin Sitolojik yöntemle göre hazırlanması

Sitolojik inceleme için alınan simirler, %96'luk etil alkolde tespit edildikten sonra Sitoloji Laboratuvarında rutin Papanicolaou boyama metoduna göre boyanmış ve binoküler ışık mikroskopunda incelenmiştir. İncelemeler sırasında x10, x40 ve x100 objektifler kullanılmıştır. Clue cell tespit edilen yaymalar tekrar detaylı

incelenmiş ve epitel hücre- bakteri ilişkisi açısından önemli bölgeler işaretlenerek fotoğrafları çekilmiştir. Fotoğraflar, “Leica” marka trinoküler floresan ataçmanlı dijital mikroskobun x40 ve x100'lük objektifleri kullanılarak çekilmiştir.

3.4. Örneklerin Elektron Mikroskopik (EM) yöntemine göre hazırlanması

Elektron mikroskopik inceleme için glutraldehit içine alınan örnekler Histoloji-Embriyoloji Laboratuvarında takip edilmiştir. Örnekler ilk olarak 21 C° 1200 rpm'de 5 dakika santrifüj edilmiş ve hücrelerin çökmesi sağlanmıştır. Daha sonra aynı işlem 3 kez fosfat tamponuyla tekrarlanmış hücrelerden glutraldehitin uzaklaşması sağlanmıştır. Glutraldehitten sonra hücreler osmium tetroksitte ikinci kez tespit edildiler. Bu basamaktan sonra hücre örneği %2'lik agaroz içine alınarak takip işlemine hazır hale getirilmiştir. Agaroz içindeki hücre örneği rutin transmisyon elektron mikroskop doku takip yöntemine göre dehidratasyonu takiben propilen oksitte şeffaflandırdıktan sonra araldite gömülmüş ve 60 derecede 48 saat polimerize edilmiştir. Araldit içine alınan hücre örneklerinden ilk olarak yarı ince kesitler alınmış metilen mavisi-Azur II ile boyanmıştır. Daha sonra bu kesitler Leica marka mikroskopta x40'luk büyütmede incelenmiş ve EM'de incelenecek bölgeye karar verilmiştir. Uygun alanlar saptandıktan sonra alınan ince kesitler (50-70nm) uranil asetat ve kurşun sitrat ile boyanıp JEOL JEM-1400 elektron mikroskobunda incelenmiş ve dijital olarak fotoğrafları çekilmiştir.

4.SONUÇLAR

Çalışmamızda yer alan 200 hastanın servikal örnekleri hem sitolojik hem elektoron mikroskopik olarak incelenmiş ve sitolojik inceleme sonucu elde edilen sonuçların istatistiksel değerlendirilmesi yapılmıştır. Elektron mikroskopik inceleme sonucu ise epitel hücre bakteri ilişkisi detaylı bir şekilde irdelenmiştir. 200 hastadan 7' si (%3.5) BV pozitif [BV (+)] olarak saptanmış ve bu grup çalışma grubu olarak alınmıştır. Geriye kalan BV negatif [BV (-)] 193 (%96.5) hasta ise kontrol grubu olarak kabul edilmiştir.

4.1. Servikovajinal Örneklerin Sitolojik Yöntemle İncelenmesi ve İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

BV (+) hastalar saptanırken baz alınan sitolojik kriterler, yaymalarda clue cell tipi hücrelerin görülmesi, serbest kok-kokobasillerin görülmesi buna karşın laktobasil ve PMNL bulunmamasıdır. BV (+) olan hastaların tamamında (%100) clue cell tipi hücreler gözlenirken kontrol grubundaki hastaların 2'sinde ise (%1.036) clue cell tipi hücreye rastlanmıştır(Çizelge 4.1). İstatistiksel analiz sonucu BV pozitifliği ile clue cell tipi hücreler arasında anlamlı bir ilişki olduğu bulunmuştur ($p<0.05$). BV kriterlerinin gözlenmesi için, sitolojik kriterlerden clue cell tipi hücreler büyük büyütme alınıp incelendiğinde, eritrositlerin clue cell tipi hücrenin zarına yapıştığı bazılarının ise zara doğru uzandığı görülmüştür. (Şekil 4.1, 4.2). Ayrıca BV (+) hastaların 4'ünde (%57.14) eritrosit saptanırken BV (-) hastaların 128'inde (%66.32) eritrosit olduğu gözlenmiştir. BV pozitifliği ile eritrosit varlığı arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki saptanamamıştır ($p>0.05$) (Çizelge 4.2). Bunun yanı sıra BV (+) hastaların yalnızca 2'sinde (%25.71) nadir PMNL olduğu gözlenirken kontrol grubundaki hastaların 159'unda (%82.38) çok bol PMNL gözlenmiştir (Çizelge 4.1). İstatistiksel olarak BV pozitifliği ile PMNL yokluğu arasında anlamlı bir ilişki olduğu saptanmıştır ($p<0.05$). BV (-) bir hastaya ait yaymada görülen clue cell tipi hücrenin etrafı çok bol PMNL ile çevrilidir (Şekil 4.3). Ayrıca BV (+) hastaların 1'inde (%14.28) makrofaj gözlenirken, BV (-) hastaların 88'inde (%45.59) makrofaj saptanmıştır (Çizelge 4.2). Şekil 4.4' de kontrol grubunda bir hastaya ait yaymalardaki makrofaj görülmektedir. Sitoplazmasındaki vakuollerden bazılarının içinde sindirilmiş çeşitli maddeler bulunmaktadır. Ayrıca çevresinde çok bol PMNL'ler görülmektedir. BV pozitifliği ile makrofaj varlığı arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır ($p>0.05$).

Diğer önemli bulgulardan biri ise BV (+) hastaların hiç birinde (%0) laktobasil gözlenmezken, BV(-) hastaların ise 74'ünde (%38.34) laktobasile rastlanmıştır (Çizelge 4.1). BV pozitifliği ile laktobasil yokluğu arasındaki ilişki istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ($p < 0.05$). Ayrıca laktobasillerin de epitel hücrelere yapışarak onları kapladığı ve clue cell görünümüne neden olduğu sitolojik inceleme sırasında gözlenmiştir. Bu görünüm ise false clue cell olarak adlandırılmaktadır (Şekil 4.5). Ayrıca BV (+) hastaların hepsinde (%100) tüm hücrelerin etrafında ve zeminde serbest kok ve kokobasil olduğu gözlenirken BV (-) hastaların 45'inde (%48.38) seyrek halde serbest kok ve kokobasil olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.1). BV pozitifliği ve kok- kokobasil varlığı arasındaki ilişki anlamlı olduğu saptanan diğer bulgulardan biridir ($p < 0.05$). Bunun yanı sıra serbest haldeki kok ve kokobasillerin de Şekil 4.6' daki gibi eritrositlerle ilişkide olduğu ve eritrosit zarına yapıştığı dikkati çekmiştir. BV (+) hastaların 2'sinde (%28.57), BV (-) hastaların ise 37'sinde (%19.17) metaplazi olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.2). Fakat BV pozitifliği ve metaplazi arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır ($p > 0.05$). BV (-) hastaların 3'ünde (%1.55) RİA bulunduğu saptanmıştır (Çizelge 4.2).

Hücrelerdeki atipik değişikliklerle BV ilişkisi incelendiğinde BV (+) hastalardan 1'inde (%14.28) ASCUS (atypical squamous cells of undetermined significance) sınıflamasına ait hücreler görülmüştür. BV (-) hastaların oluşturduğu kontrol grubunda ise 7'sinde (%3.62) ASCUS gözlenmiştir (Çizelge 4.2). BV (+) hastada ASCUS değişiklikleri gösteren Şekil 4.7'de görülmektedir. Şekil 4.8' de ise HPV pozitif [HPV (+)] bir hastaya ait koilostatik hücreler görülmektedir. BV (+) olan hastalarının 1'inde (%14.28) serbest koklarla kısmen clue cell görünümü almış *Trichomonas vaginalis* (TV)' e rastlanmıştır (Şekil 4.9). Kontrol grubu hastalarının ise 5'inde (%2.59) TV olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.2). BV (+) olup aynı zamanda TV olan hastaya sayısı çok az olduğu için istatistiksel açıdan sonuç anlamlı bulunmamıştır.

Ayrıca kontrol grubu hastaların 11'inde (%5.69) kandidal hif ve blastospor, 4'ünde (%2.07) klamidyal inkülüzyon cisimcikleri, 7'sinde (%3.62) AGC (atypic glandular cell) hücreleri, 1'inde (%0.51) adenokanser hücreleri görülmüştür (Şekil Şekil 4.10, Şekil 4.11, Şekil 4.12, Şekil 4.13 ve Şekil 4.14). Ayrıca kandidal hif ve blastospor görülen hastaya ait yaymalardan birinde kuvvetli sitoplazmik polimorfizm gösteren hücreye rastlanmıştır (Şekil 4.15). Kontrol grubundaki bir hastaya ait yaymada

endoservikal hücrelerde bulunan siller ve alanda görülen sperm dikkati çekmiştir (Şekil 4.16).

BV (+) hastalarda sitolojik tanı kriterlerinin yanı sıra klinik tanı kriterlerinden akıntı ve kaşıntı şikayetleri de istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. 7 hastanın 4'ünde (%57.14) akıntı olduğu ve hiç birinde (%0) kaşıntı görülmediği tespit edilmiştir (Çizelge 4.2). Kontrol grubu hastaların ise 42'sinde (%27.76) akıntı, 5'inde ise (%2.59) kaşıntı olduğu saptanmıştır. Hata sayısı az olduğundan bu parametreler arasında anlamlı bir ilişki saptanamamıştır.

Çizelge 4.1: Çalışma grubundaki hastalar ile kontrol grubundaki hastaların PAP yaymalarının BV kriterleri açısından değerlendirilmesi

BV Kriterleri	Çalışma grubu (n=7)	Kontrol grubu (n=193)	P değeri
Clue Cell VAR YOK	7 (%100) 0 (%0)	2(%1.036) 191(%98.964)	*p< 0.05
PMNL VAR YOK	**2 (%25.71) 5 (%74.29)	159 (%82.32) 34 (% 17.68)	*p<0.05
Laktobasil VAR YOK	0 (%0) 7 (%100)	74 (%38.34) 119 (%61.66)	*p<0.05
Serbest kok ve kokobasil VAR YOK	7 (%100) 0 (%100)	45 (%48.38) 148 (% 51.62)	*p<0.05

* İstatistiksel olarak anlamlı bulunan sonuçlar

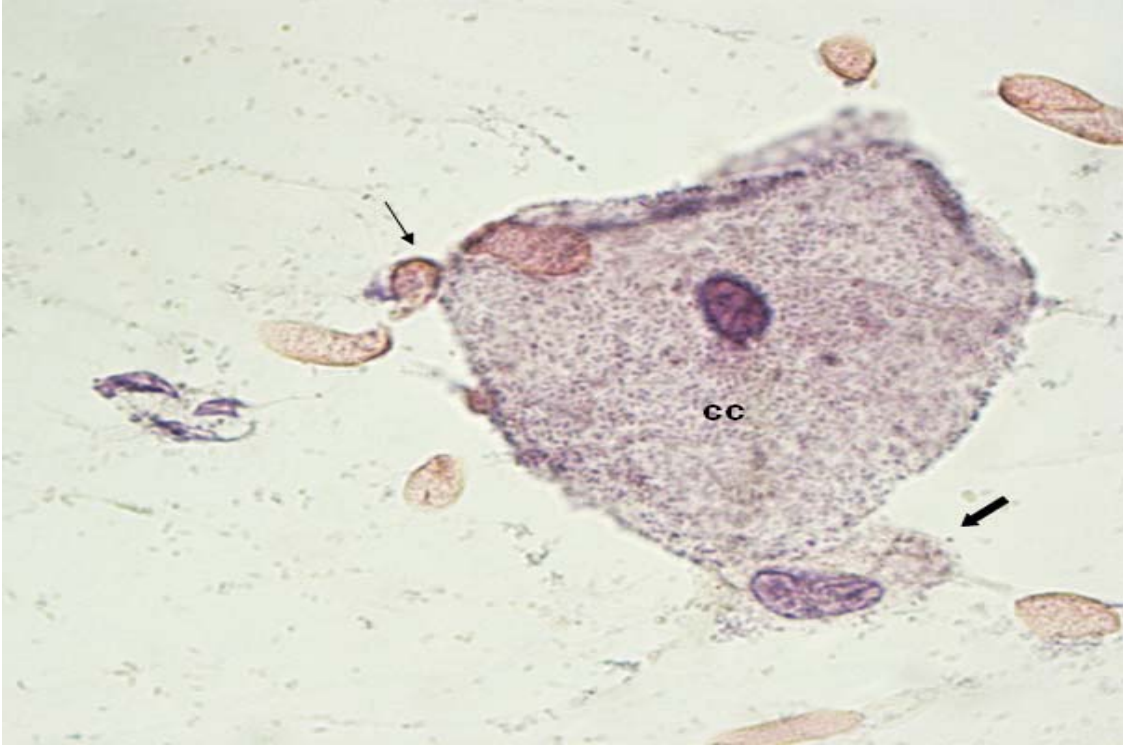
** Çok nadir

Çizelge 4.2: Çalışma grubu ve kontrol grubu hastalarının PAP yaymalarının incelenmesi sonucu elde edilen sitolojik bulgular

Sitolojik Bulgular	Çalışma grubu (n=7)	Kontrol grubu (n=193)	P değeri
Eritosit VAR YOK	4 (57.14) 3 (%42.86)	128 (%66.32) 65 (%33.68)	p> 0.05
Makrofaj VAR YOK	1 (%14.28) 6 (%85.72)	88 (%45.59) 105 (%54.41)	p>0.05
Metaplazi VAR YOK	2 (%28.57) 5 (% 71.43)	39 (%19.17) 154 (%80.83)	p>0.05
RIA VAR YOK	0 (%0) 7 (%100)	3 (%1.55) 190 (%98.47)	p>0.05
ASCUS VAR YOK	1 (%14.28) 6 (%85.72)	7 (%3.62) 186 (%96.38)	p>0.05
Trichomonas vaginalis VAR YOK	1(%14.28) 6 (%85.72)	5 (%2.59) 188 (%97.41)	p>0.05
Kandidal hif ve blastospor VAR YOK	0 (%0) 7 (%100)	11 (%5.69) 182 (%94.31)	p>0.05
Klamidyal inkülüzyon VAR YOK	0 (%0) 7 (%100)	4 (%2.07) 189 (%97.93)	p>0.05
AGC VAR YOK	0 (%0) 7 (%100)	7 (% 3.62) 186 (%96.38)	p>0.05
Adenokanser VAR YOK	0 (%0) 7 (%100)	1 (%0.51) 192 (%99.49)	p>0.05

Çizelge 4.3: Çalışma grubundaki hastalar ile kontrol grubundaki hastaların klinik şikayetlerinin değerlendirilmesi

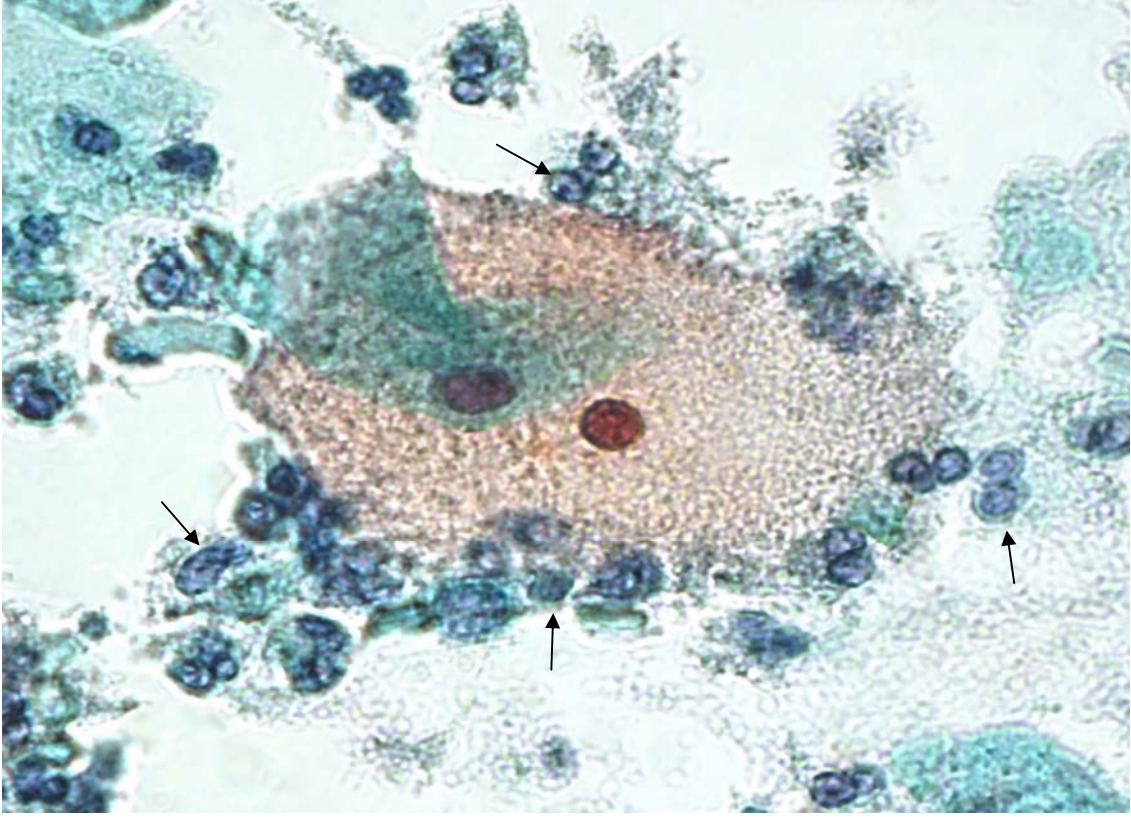
Klinik Şikayetler	Çalışma Grubu (n=7)	Kontrol Grubu (n=193)	p değeri
Akıntı VAR YOK	4 (%57.14) 3 (%42.86)	42 (%27.76) 151 (%72.24)	p>0.05
Kaşıntı VAR YOK	0 (%0) 7 (%100)	5 (%2.59) 188 (%97.41)	p>0.05



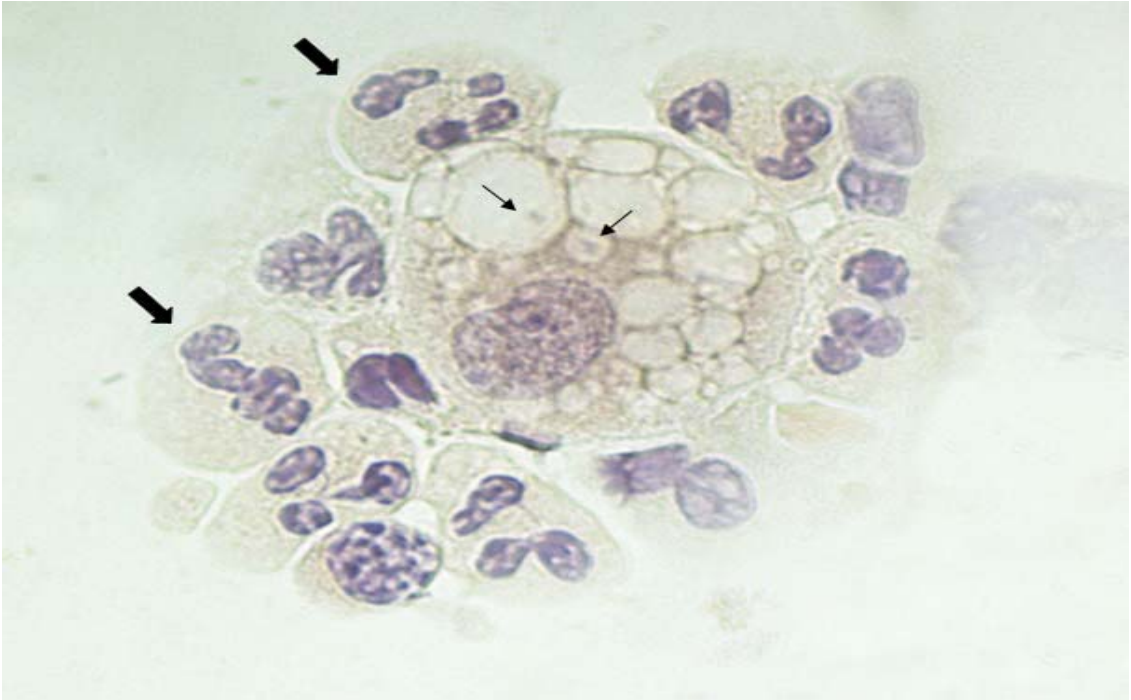
Şekil 4.1: Üzerinde çok bol kokoid yapıda bakterilerin bulunduğu clue cell (cc) tipi hücre, clue cell hücre zarına yapışmış eritrosit (ok) ve makrofaj (kalın ok) görülmektedir (Papanicolaou x 1000).



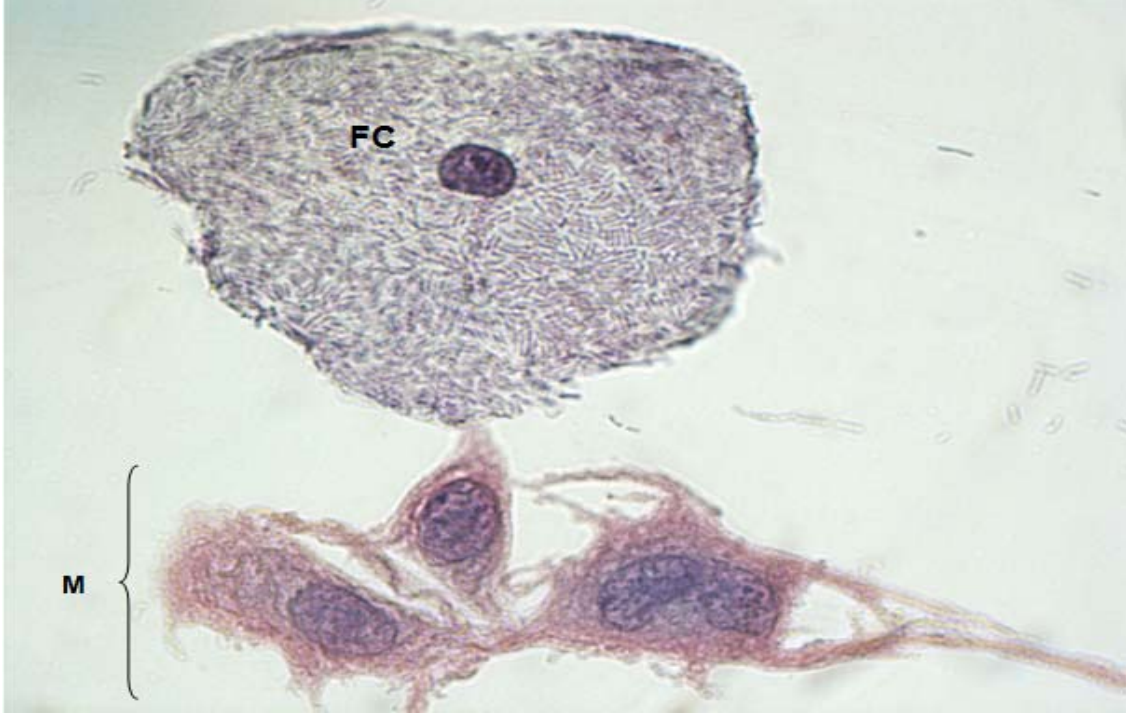
Şekil 4.2: Ortamda bol eritrosit bulunduğu, bu eritrositlerin bir kısmının hücre zarına yapıştığı (kalın ok), bazılarının ise zara doğru uzantılar yaptığı (ok) görülmektedir. Ayrıca hücre zarındaki düzensizlikler (kırmızı ok) dikkati çekmektedir (Papanicolaou x 1000).



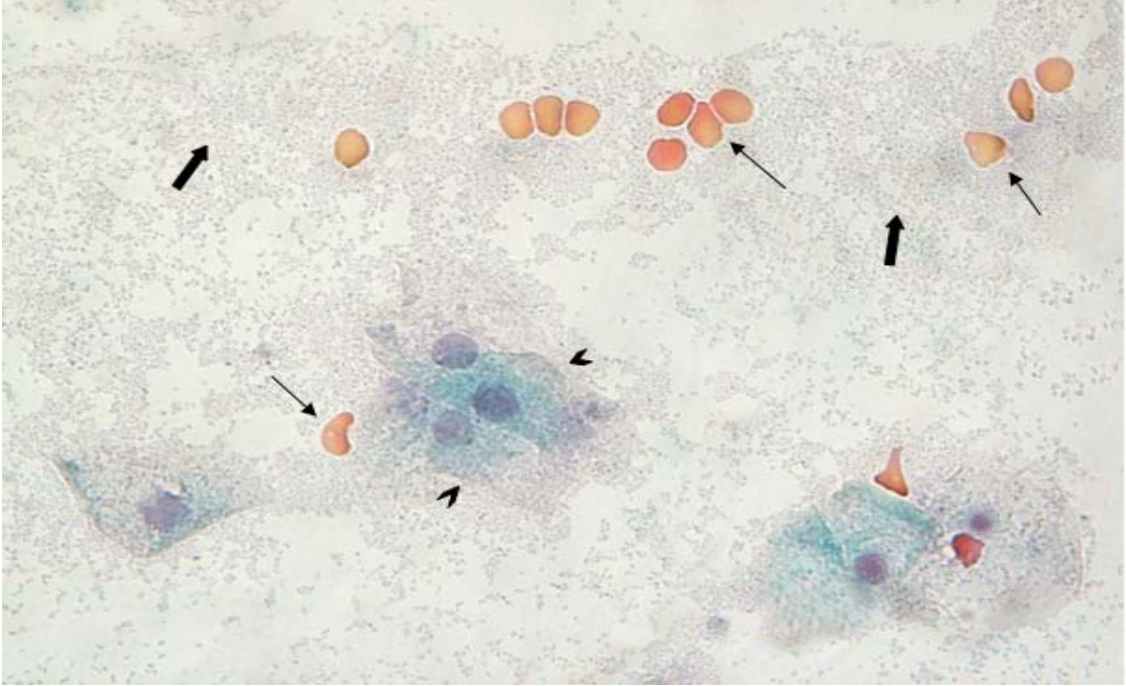
Şekil 4.3: Etrafı çok bol şekilde PMNL (ok) ile çevrili clue cell tipi hücre (Papanicolaou x 1000).



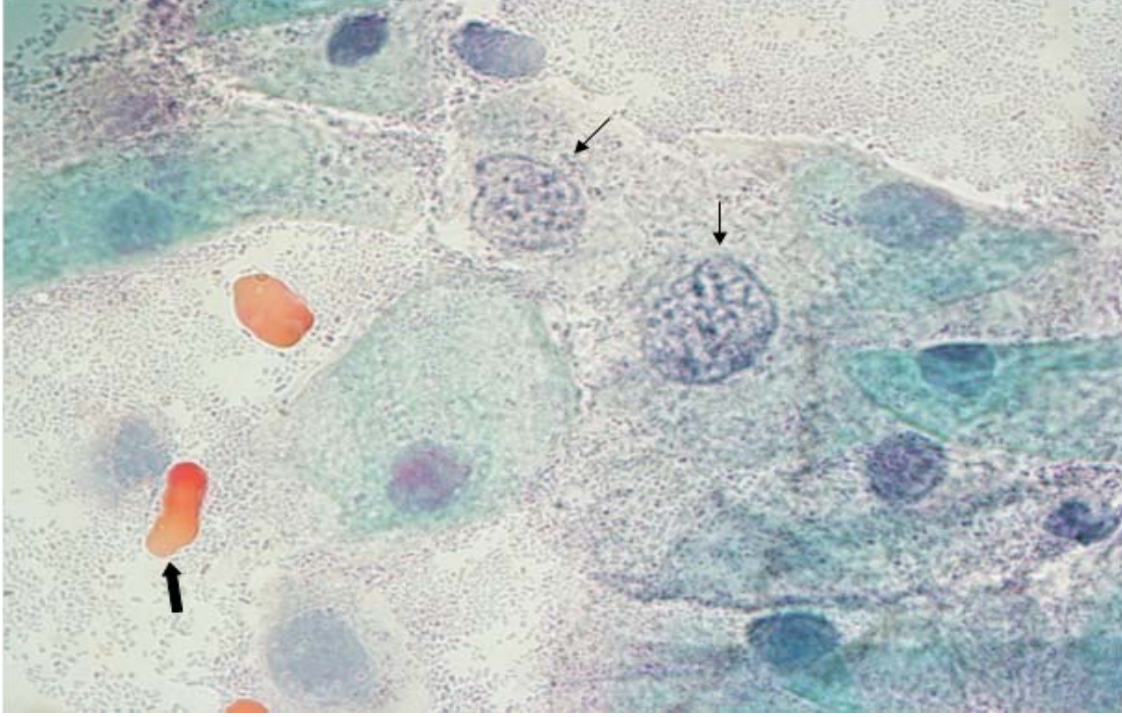
Şekil 4.4: Sitoplazması bol vakuollü bir makrofaj görülmekte. Bazılarının içinde fagosite edilmiş maddeler (ok) görülmekte, etrafında ise çok bol PMNL (kalın ok) bulunmaktadır (Papanicolaou x 1000).



Şekil 4.5: Laktobasillerle kaplı false clue cell (FC) hücresi ve metaplazik hücreler (M) (Papanicolaou x 1000).



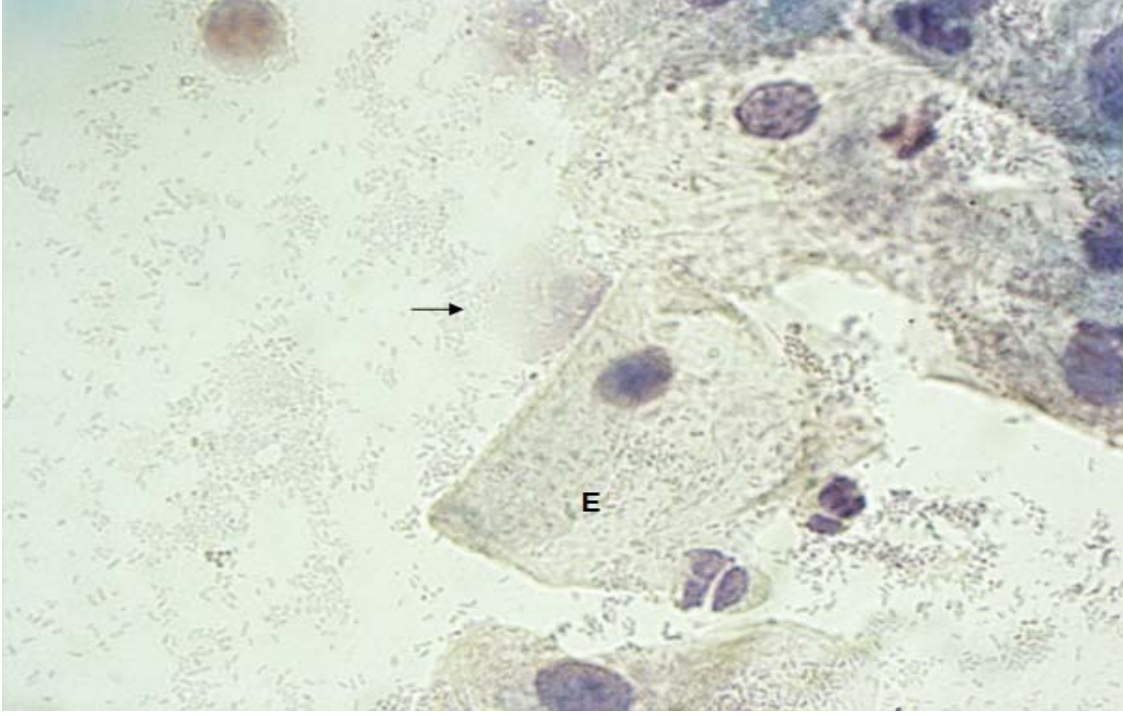
Şekil 4.6: BV (+) olan bir hastada clue cell tipi hücreler (ok başı) ve zeminde sıvama bollukta serbest koklar (kalın ok) ve serbest koklara yapışmış eritrositler (ok) (Papanicolaou x 40).



Şekil 4.7: BV (+) olan hastada ASCUS değişiklikleri gösteren hücreler (ok). Çekirdeklerdeki hafif hiperkromazi ve büyüme dikkati çekmekte. Kalın okla gösterilen eritrositin bakteriler ile çevrili olduğu görülmektedir (Papanicolaou x 1000).



Şekil 4.8: HPV (+) BV (-) olan bir hastada çekirdekler ASCUS (hiperkromatizm ve çekirdek büyümesi) sitoplazma koilostatik özellikler göstermektedir (ok) (Papanicolaou x 1000).



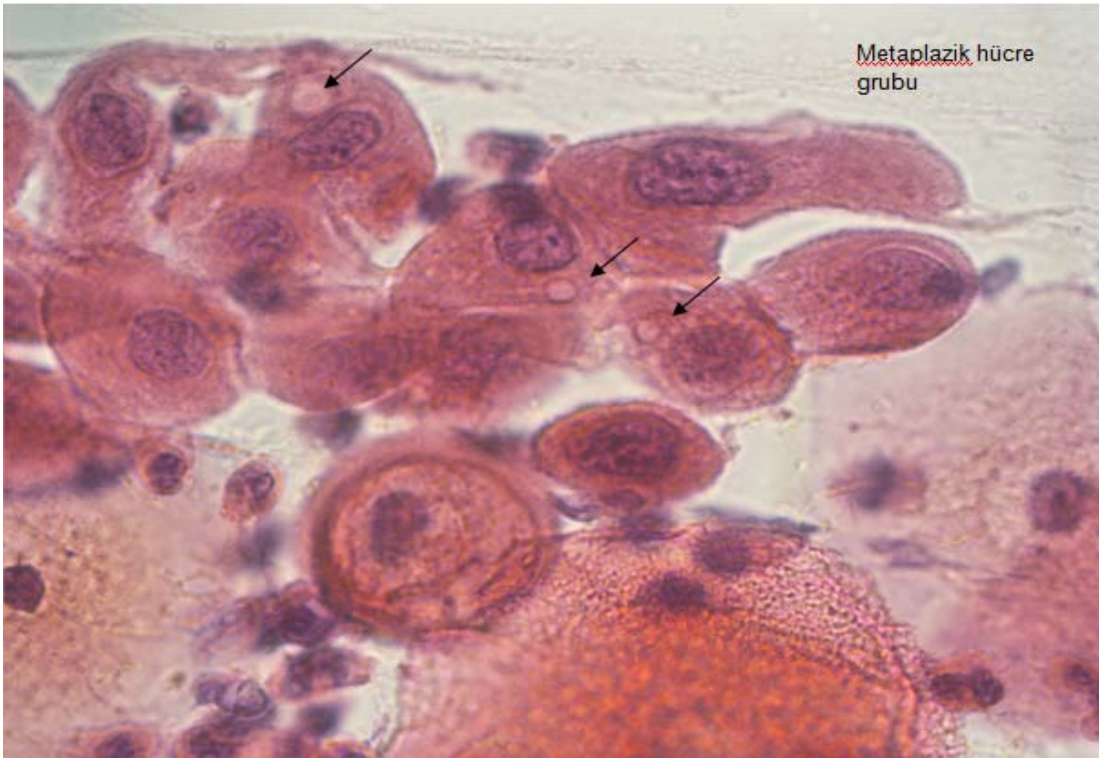
Şekil 4.9: BV (+) hastaya ait yaymada görülen üzerinde kok ve kokobasil bulunan epitel hücrelerine (E) yapışmış *Trichomonas vaginalis* (ok) (Papanicolaou x 1000).



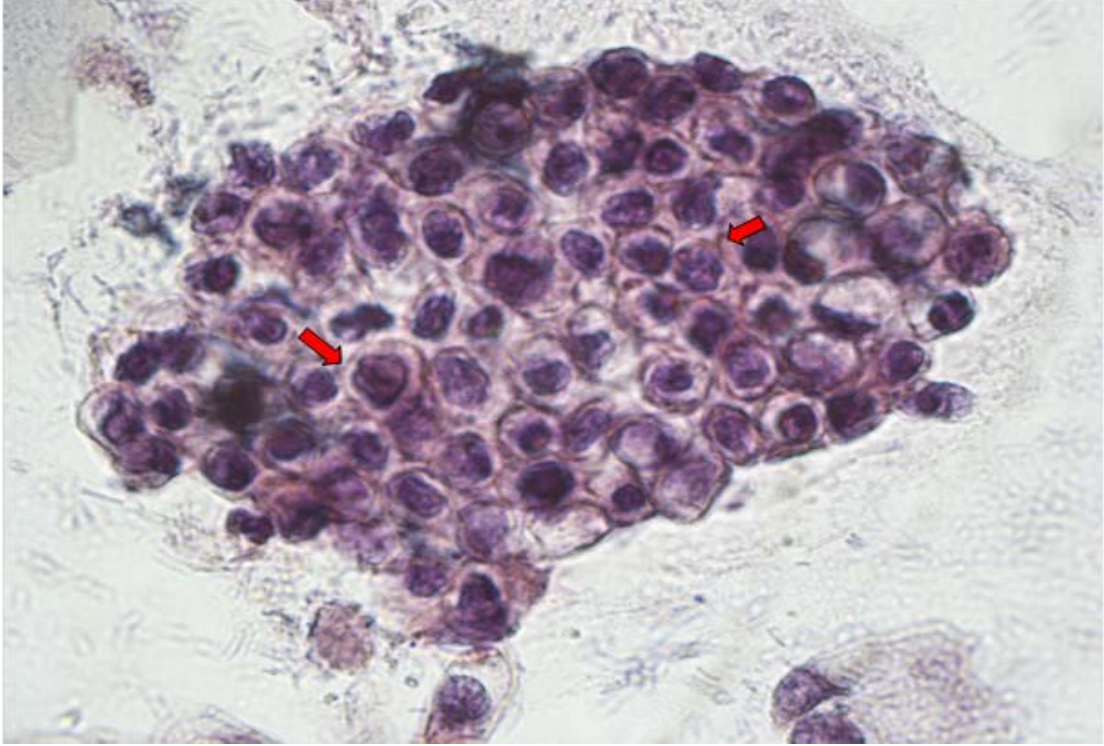
Şekil 4.10: Epitel hücre (E) zarına yapışmış kandidal pseudohifler (kalın ok) ve blastosporlar. Blastosporların bulunduğu bölgedeki septalar dikkati çekmekte (ok) (Papanicolaou x 1000).



Şekil 4.11: Fungal enfeksiyon tanısı almış bir hastaya ait yaymadaki sitoplazmik polimorfizm gösteren eozinofilik bir hücre görülmektedir (Papanicolaou x 1000).



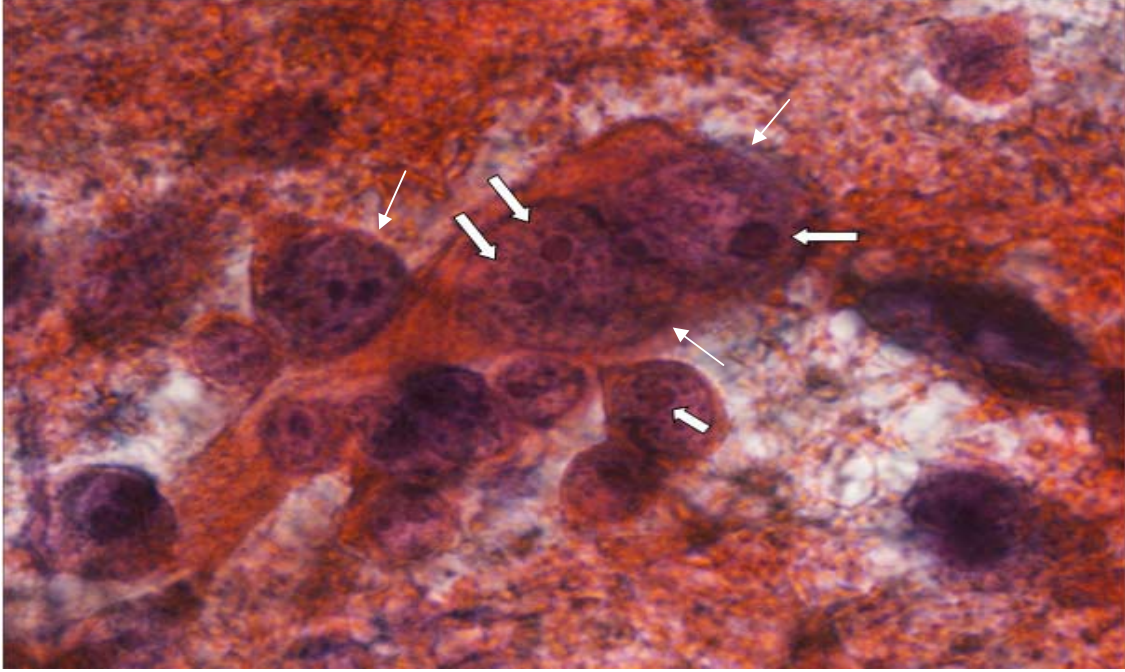
Şekil 4.12: Metaplazik değişiklikler gösteren hücre sitoplazmalarında intrasitoplazmik inkülüzyon cisimcikleri (ok) görülmektedir (Papanicolaou x 1000).



Şekil 4.13: AGC tanısı verilmiş hastaya ait yaymada atipik endometriyal hücre grubu görülmektedir. Hücrelerin çekirdeklerindeki büyüme ve zarlarındaki düzensizlik (kırmızı ok) dikkati çekmekte (Papanicolaou x 1000).



Şekil 4.14: AGC tanısı verilmiş bir hastaya ait yaymada sitoplazması olmayan, çıplak ve büyük atipik bir çekirdek görülmektedir (Papanicalou x1000).



Şekil 4.15: Over kanseri teşhisi konmuş bir hastaya ait yaymada görülen malignant özellikteki endoservikal adenokanser hücreleri görülmektedir. Bu hücrelerdeki çekirdeklerin (beyaz ok) ileri derecede büyümüş ve hiperkromatik oluşu, çekirdekçiklerinin (kalın beyaz ok) de büyümüş ve sayıca artmış olması dikkati çekmektedir (Papanicalou x1000).



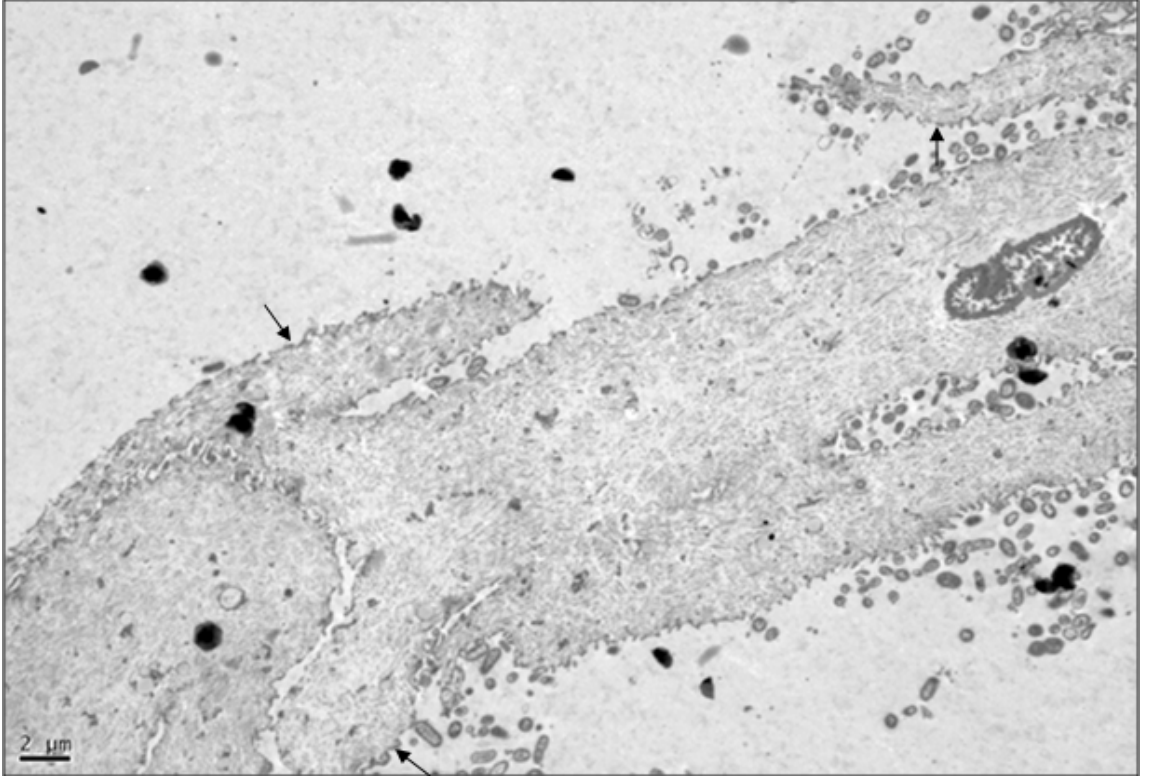
Şekil 4.16: Çit görünümündeki normal silli (ok) endoservikal hücreler ve çevresinde spermler görülmektedir (Papanicolaou x 1000).

4.2 Clue Cell Tipi Hücrenin Elektron Mikroskopik Yöntemle İncelenmesi ve Değerlendirilmesi

Elektron mikroskopik inceleme sırasında sitoplazmik uzantılarıyla birbirine bir fermuar gibi kenetlenmiş olan, etrafında kok ve kokobasillerin bulunduğu clue cell tipi hücreler görülmüştür (Şekil 4.17 ve Şekil 4.18). Clue cell tipi hücreler daha büyük büyütmeyle alınıp incelendiğinde, etrafındaki kokobasillere doğru ince sitoplazmik uzantılar çıkardığı saptanmıştır (Şekil 4.19 ve Şekil 4.20). Bu uzantılardan birinin hücre zarına çok yaklaşmış olan iki bakteriye doğru çatallanma göstererek yönelmiş olması dikkatimizi çekmiştir ve hücre zarının bazı bölgelerinde elektron yoğun görünümde olan aktin plaklarına rastlanmıştır (Şekil 4.21). Bu gözlemlerin yanı sıra sitoplazmadaki dağınık aktin demetleri ve bakterilerin çevresinde eksopolisakkarit (biyofilm materyali) olduğunu düşündüğümüz alanlar görülmüştür.

Clue cell hücrelerinde görülen bir başka bulgu da sitoplazmasında sindirilmiş bakteri artıkları içeren vakuoller ve hücre sitoplazmasında bulunan bol glikojen granülleridir (Şekil 4.22). Bu alana daha büyük büyütmeyle bakıldığında bakterilere ait sindirilmiş materyalin intakt (bozulmamış) bakteri sitoplazmasındaki yapılara çok benzediği dikkatimizi çekmiştir (Şekil 4.23). Ayrıca bütünlüğü bozulmuş bakteriyle clue cell hücresinin kaynaşdığı bölgede aktin filamentlerinin bakteriye doğru yöneldiği ve iki zarın kaynaştığı yerde dik pozisyonda bakteri zarıyla birleştiği görülmektedir. Diğer bir resimde ise bakteriyle epitel hücre zarı kaynaştığı zaman bakterinin hücre duvarının olmadığı, kaynaşmamış olan bakteride hücre duvarının varlığı dikkatimizi çekmiştir. İntakt olan bu bakteride pililerin bulunduğu ve çevresinde de biyofilm materyaline rastlandığı görülmüştür (Şekil 4.24).

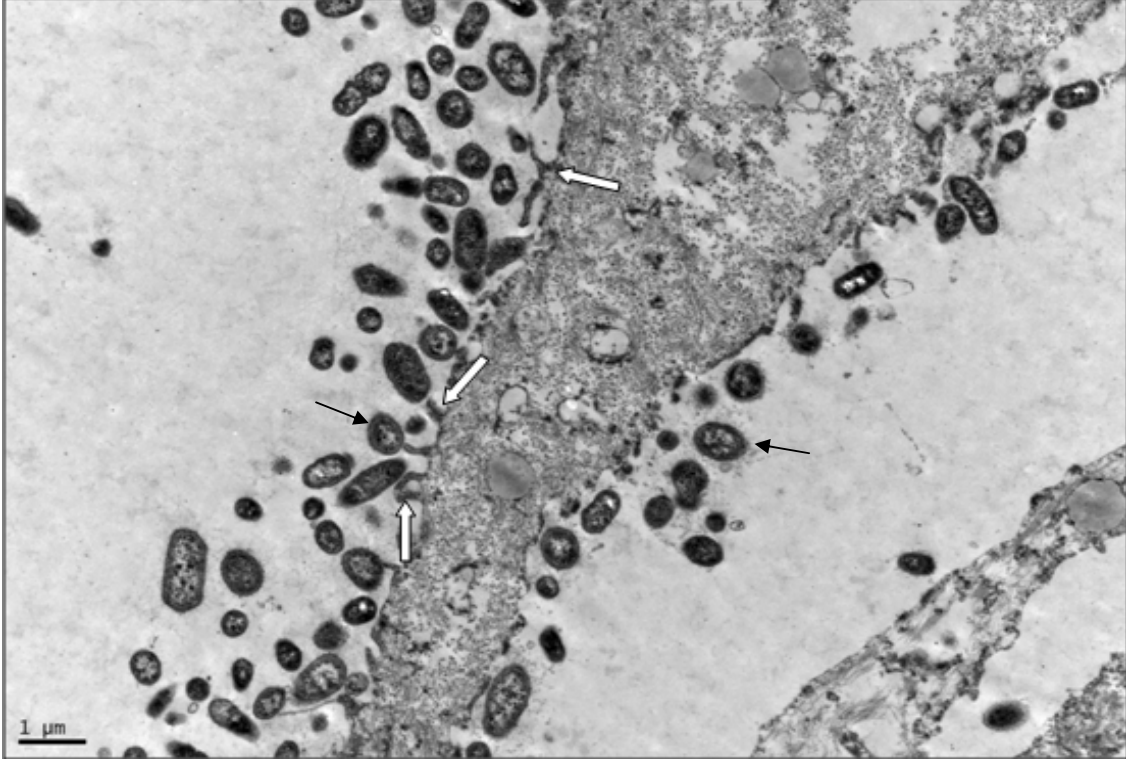
Clue cell tipi hücrede kaynaşmış olan bölgede hem epitel hücre zarının hemde bakteri hücre zarının bozulmuş olduğu birleşmemiş olan epitel zarının ise bütünlüğünü kordduğu tespit edilmiştir. Ayrıca bakteri tarafında henüz salgılanıp dışarı verilmiş biyofilm materyali olduğunu düşündüğümüz alanlar da görülmüştür (Şekil 4.22).



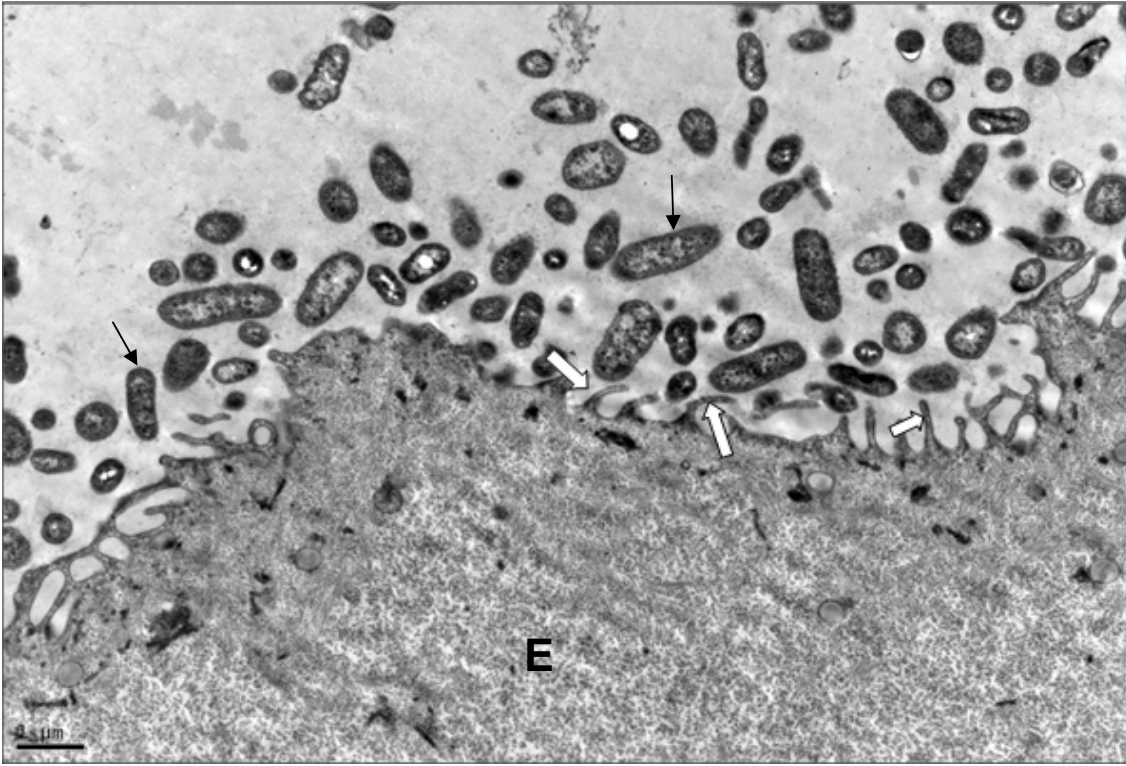
Şekil 4.17: Sitoplazmik uzantılarıyla (ok) birbirini sıkıca sarmış clue cell tipi hücreler ve normal epitel hücreleri (Uranil asetat-Kurşun Sitrat x3000).



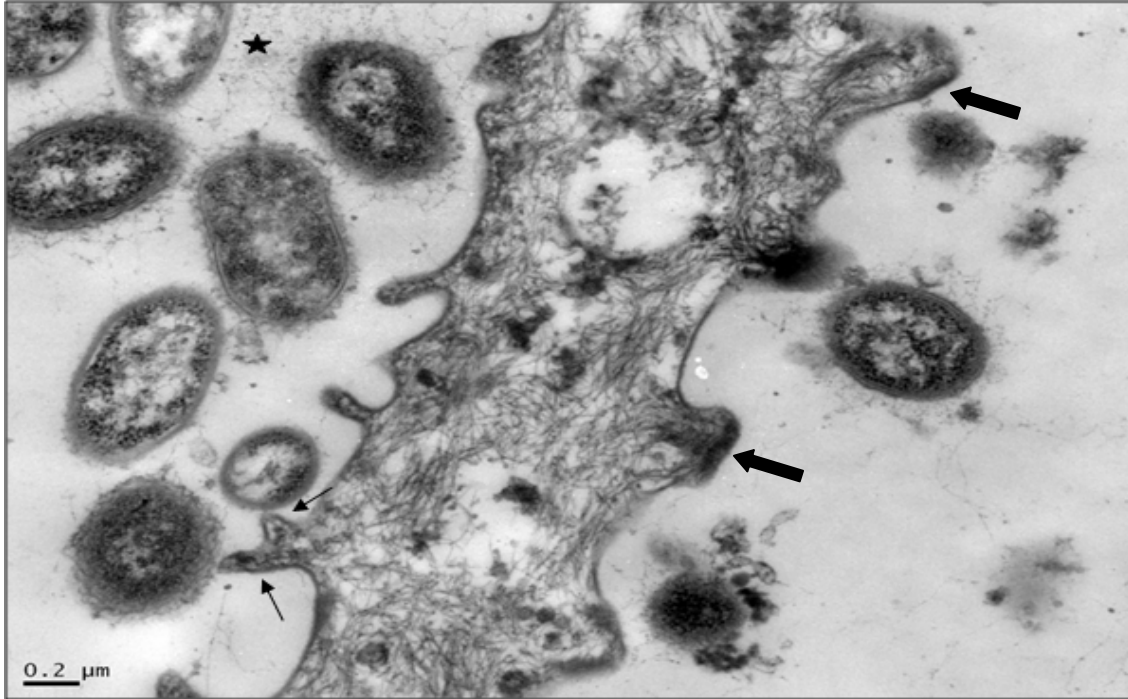
Şekil 4.18: Clue cell tipi hücelere ait sitoplazma uzantıları (ok) normal epitel hüceleri (Uranil asetat-Kurşun Sitrat X4000).



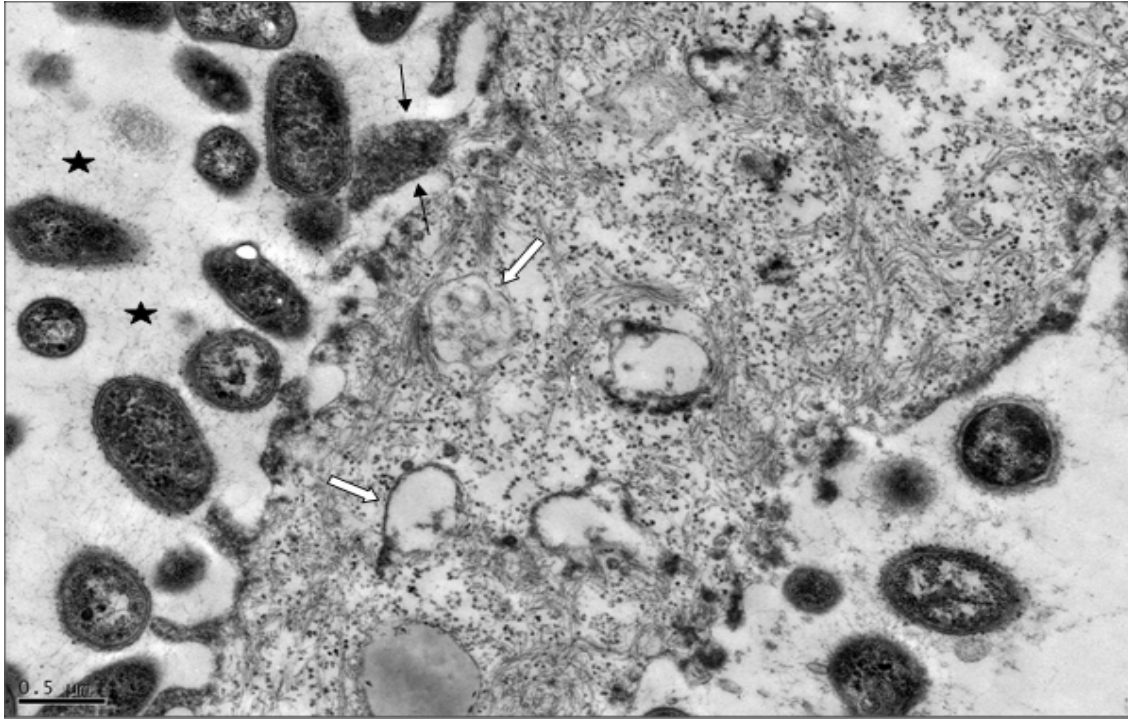
Şekil 4.19: Clue cell tipi hücreye ait sitoplazma ve bakterilere (siyah ok) doğru uzamış sitoplazmik çıkıntılar (beyaz ok) (Uranil asetat-Kurşun Sitrat X12000).



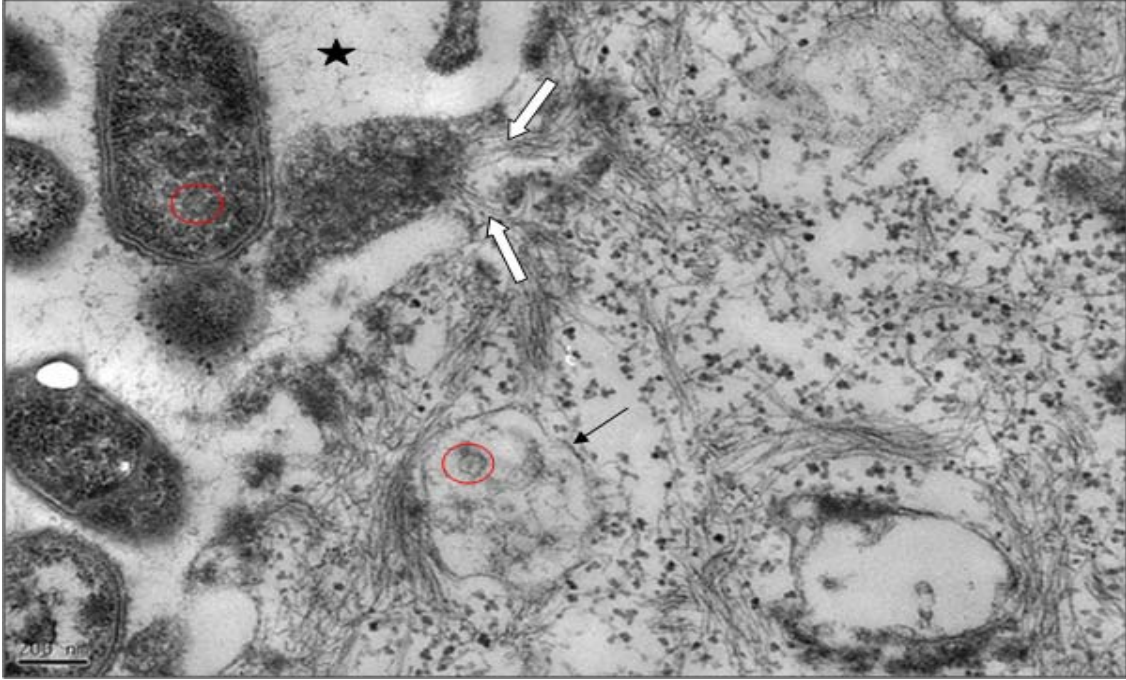
Şekil 4.20: Epitel hücre (E) zarından kokobasil görünümündeki bakterilere (siyah ok) doğru uzanan sitoplazmik çıkıntılar (ok) (Uranil asetat-Kurşun Sitrat x12000)



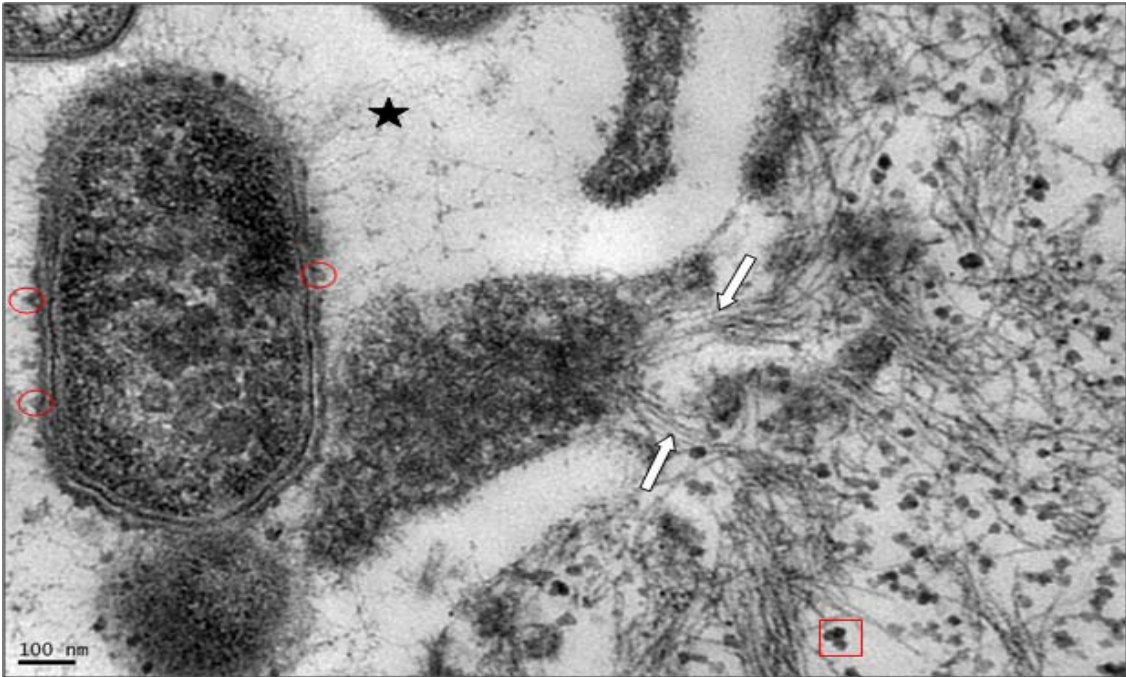
Şekil 4.21: Hücre zarından uzayan bir sitoplazmik çıkıntının iki ayrı bakteriye doğru çatallanma göstererek uzaması (ok). Hücre zarında birikmiş aktin plakları (kalın ok). Bakterilerin çevresinde fibriller yapıda ekstropolisakkarit (EPS=yıldız) hücre sitoplazmasında da dağınık aktin demetleri görülmektedir (Uranil asetat-Kurşun Sitrata x40000).



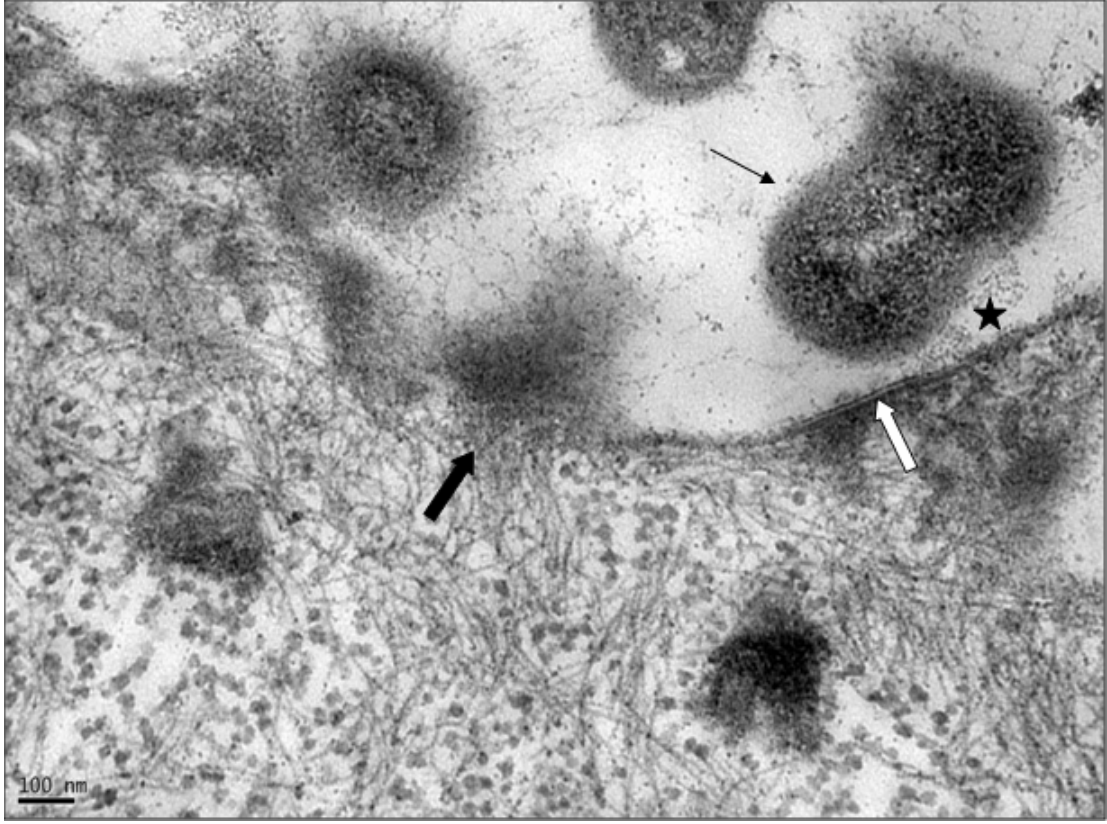
Şekil 4.22: Clue cell tipi hücrenin sitoplazmasıyla kaynaşmış bakteri (siyah ok) ve bakteri fagositoz etmiş, içinde bakteri artıkları olan vakuoller (beyaz ok). Ayrıca fibriller yapıda EPS de görülmekte (yıldız) (Uranil asetat-Kurşun Sitrata X30000).



Şekil 4.23: Bir önceki resmin daha büyütülmüş hali. Duvar bütünlüğü bozulmuş bakteriye dik olarak uzanmış ve kaynaşmış aktin filamentleri (beyaz ok). Ayrıca içi bakteri artığı dolu olan vakuol (siyah ok) görülmekte. Yine bakteriden uzanan biyofilm materyali de görülmektedir (yıldız) Bütünlüğünü koruyan bakteri ile fagositik vakuol içindeki maddenin benzer oluşu dikkati çekmektedir (Kırmızı çember) (Uranil asetat-Kurşun Sitrat X60000).



Şekil 4.24: Epitel hücre sitoplazmasında dağınık halde bulunan aktin filamentleri bakteriye dik bir şekilde bağlanmış (beyaz ok). Aktin filamentleriyle kaynaşmış bakterinin hücre duvarı bozulmuşken hemen yanındaki bakterinin hücre duvarı ve duvardan dışarıya doğru uzayan pilileri (kırmızı çember) net bir şekilde gözlenmekte. Ayrıca fibriller yapıdaki EPS (yıldız) daha yakından görülmektedir. Sitoplazmada bol miktarda glikojen granülü bulunmaktadır (Kırmızı kare) (Uranil asetat-Kurşun Sitrat X100000).



Şekil 4.25: Bakteriyle sitoplazmanın kaynaştığı bölgede hücre zarı kaybolmuşken (kalın siyah ok) sağ taraftaki bakteriye (siyah ok) çok yakın hücre zarı bütünlüğünü korumaktadır (beyaz ok). Ayrıca bakterinin yeni salgılamaya başladığını düşündüğümüz biyofilm materyali de (yıldız) gözlenmektedir (Uranil asetat-Kurşun Sitrat X100000).

5.TARTIŞMA

Bakteriyel vajinozis fertil dönemde sık rastlanılan vajinit çeşitlerinden biridir. Bu enfeksiyon başta *Gardnerella vaginalis* olmak üzere çeşitli bakteri türleri tarafından oluşturulmaktadır. BV'nin en önemli sitolojik tanı kriteri ise ışık mikroskopik olarak clue cell tipi hücrelerin görülmesidir. Bizim çalışmamızın amacı, clue cell tipi hücrelerin ışık ve elektron mikroskopik olarak detaylı incelenmesi ve bakteri-epitel hücre adezyonunun daha iyi ortaya konabilmesidir.

Çalışmamızda rutin kontrol amacıyla kliniğe başvuran 23-81 yaş arası 200 hastanın servikovajinal örnekleri incelenmiş ve bu inceleme sırasında BV için tipik tanı kriterlerinden olan clue cell hücreleri görülmüştür. Clue cell hücreleri başta *G. vaginalis* olmak üzere BV' ye neden olan diğer kok ve kokobasil tarzında bakterilerle kaplı skuamoz epitel hücreleri olduğu bildirilmektedir [88]. BV tanısı için clue cell tipi hücrelerin yaymalarda %35 oranında görülmeleri gerektiği yapılan çalışmalarda ortaya konmuştur [89]. Bizim çalışmamızda clue cell tipi hücrelerin %35 oranında olduğu yapılan incelemelerle saptanmıştır. Işık mikroskopik olarak görülen clue cell tipi hücreler immersiyon objektifiyle incelendiğinde bazı alanlarda epitel hücrelerinin sitoplazmasının ve zarının bakterilerle kaplı olduğu bazı alanlarda da sitoplazmanın kısmen bakterilerle örtülmüş olduğu görülmüştür (Şekil 4.1 ve Şekil 4.2). Clue cell hücrelerinin yanı sıra epitel hücrelerinin etrafında çok yoğun olarak bulunan bulutsu görünümde serbest kok ve kokobasillerin de bulunması dikkatimizi çekmiştir. Şekil 4.6' da olduğu gibi tüm epitel hücrelerin etrafında yoğunlaştığı aralarında da eritrositlerin bulunduğu görülmüştür. Clue cell tipi hücrelerin elektron mikroskopik görünümünü araştırmak amacıyla yaptığımız inceleme sırasında da çok sayıda bakterinin bir araya gelerek epitel hücre zarı üzerinde toplandıkları gözlenmiştir. (Şekil 4. 17). Scott ve arkadaşlarının [6] vajinal epitel hücreleri kullanarak yaptıkları elektron mikroskopik çalışmada ise clue cell tipi hücrede epitel hücre zarının üstünün bakteri kaplı olduğu gözlenmiştir. Bakteriler epitel hücrelere pilileri aracılığıyla tutunmaktadırlar. BV' ye neden olan en önemli mikroorganizma *G. vaginalis'* te pililerin varlığı Johnson ve Davis'in [112] yaptığı elektron mikroskopik çalışmayla ortaya konmuştur. Çeşitli pili tipleri bulunmakla birlikte *G. vaginalis'*teki pili çeşidi tip 1 pili'dir. Bu tip pililer mannoz bağlayan en uç bölge Fim H ünitesi sayesinde konakçı hücre zarına tutunabilmektedir [39]. Scott ve arkadaşları [6] yaptıkları aynı araştırmada

Gardnerella vaginalis suşlarında pilileri göstermişler ve bakterilerin bu pililer sayesinde hücre zarına tutunduklarını ortaya koymuşlardır. Bizim çalışmamızda da hücre bütünlüğünü koruyan bakterilerde pililerin olduğu Şekil 4.24' te net bir şekilde gösterilmiştir. Fakat incelemek için seçilip büyütülen alanda hücre zarına pililer ile tutunmuş bakteri görülmemiştir.

Bakteriyel vajinozise neden olan bakterilerin belirli bir sayıya ulaştıkları sinyalinin (quorum sensing) aldıktan sonra biyofilm salgıladıkları, Swindski ve arkadaşlarının [46] immünofloresan teknik kullanarak yaptıkları bir araştırma ile ortaya konmuştur. Biyofilm bol miktarda şeker içeren yüksek derecede yapışkan bir maddedir ve bakterileri kaplayarak antibiyotiklerin onlara ulaşmasını engellemektedir. Bu yüzden Bakteriyel vajinozis gibi birçok enfeksiyonun tekrarlanmasına neden olmaktadır [45]. Bunun yansısıra yapılan elektron mikroskopik bir çalışmada EPS'nin fibriller yapıda olabileceği gösterilmiştir [113]. Şekil 4.22, Şekil 4.23 ve Şekil 4.24' te görüldüğü üzere bir araya gelmiş bakteriler arasında fibriller yapıda uzantılar olduğu görülmektedir. Bizim çalışmamızda görülen bu fibriller madde, yapılan diğer çalışmada ortaya konulan EPS ile büyük benzerlik göstermektedir. Ayrıca Şekil 4.25'te görülen küçük noktacıklar şeklindeki yapılar bize bu noktacıkların yeni sentezlenmiş biyofilm materyali olabileceğini düşündürmüştür

Epitel hücreye yapışan bakterilerin çeşitli yollarla hücre içine alındığı yapılan araştırmalarla ortaya konmuştur. Dramsi ve Cossart'ın [114] bu konuyla ilgili yaptığı açıklamada, bakterilerin hücre içine iki tip mekanizma ile alınabileceği ortaya konmuştur. Bu mekanizmalar tetiklenme (trigger) ve bağlanma (zipper) mekanizmalardır. *Salmonella* ve *Shigella* ile yapılan çalışmalarda tetiklenme mekanizması sırasında bakteriler tarafından salınan efektor proteinler sonucu hücrede cevap oluştuğu ve hücrenin bakterilere doğru sitoplazmik uzantılar çıkarttığı gösterilmiştir. Tetiklenme mekanizması ile hücre içine giren bakterilerde efektor proteinlerini salgılayan özel gen bölgeleri bulunmaktadır. Efektör proteinlerin üretilip salınması ise Tip III protein sekresyon yolu ile olmaktadır. Bu sitoplazmik çıkıntılar aktin demetlerinin düzenlenmesiyle olmaktadır. Bakteriler tarafından salgılanan efektor proteinler epitel hücrede fosfolipaz C'yi stimüle ederek İnositol fosfat miktarını arttırmakta ve hücre içinde bulunan Ca^{+2} depolarını baskılamaktadır. Ca^{+2} akışının bu şekilde baskılanması sonucunda aktinin, talin ve ezrin gibi aktin bağlayıcı proteinler bakterilerin sitoplazmaya giriş yapacağı bölgede

toplanmaktadır. Adam ve arkadaşları [115] yaptıkları araştırmada tetiklenme mekanizmasının diğer bir yolunda, sitoplazmada bulunan aktin demetlerinin hücre zarının proksimal ucuna doğru yöneldiğini ve burada biriktiğini göstermişlerdir. [116, 117]. *Listeria monocytogenes*, *Yersinia pseudotuberculosis* ve *Neisseria* ile yapılan çalışılarda ise, bağlanma mekanizmasında bakterilerin hücre- hücre bağlantılarında görev alan E- kaderin yada hücre – matriks ve hücre – hücre bağlantılarında görev alan İntegrin aracılığıyla hücre içine alındığı gösterilmiştir. Bakterilerin yüzeyinde bu molekülleri tanıyan İnternalin ve İnvasin adlı proteinler bulunmaktadır. Bu proteinler ile hücre zarına tutunan bakteriler daha sonra aktin filamentlerinin de yardımıyla hücre içine çekilmektedir [114, 115]. Bağlanma mekanizması ile hücre içine alındığı bilinen *Listeria monocytogenes* sitoplazmada serbest halde bulunurken, tetiklenme mekanizması ile hücre içine alınan *Salmonella* vakuol içinde hücre sitoplazma içine girmektedir [116]. Şekil 4.19 ve Şekil 4.20’ de bakterilere doğru uzanan sitoplazmik çıkıntılar dikkati çekmektedir. Bu görüntü bize bu bakterilerin tetiklenme mekanizması ile hücre içine alınabileceğini düşündürmüştür. Aynı görüntüde hücre zarının altında birikmiş aktin demetleri de bulunmaktadır. Şekil 4.21’ de ise tetiklenme mekanizmasına benzer bir yol ile iki farklı yöndeki bakteriye çatallanma yaparak aktin filamentleri yardımıyla uzamış sitoplazmik çıkıntılar görülmektedir. Ayrıca şekil 4.24’ te aktin filamentleri tarafından hücre içine çekilmekte olan bakteri görülmektedir. Bu görüntüde sitoplazmada serbest halde bulunan aktin demetleri bakteriye dik konumlanmıştır. Şekil 4.25’ te ise hücre sitoplazmasından bakteriye doğru herhangi bir çıkıntı gözlenmemekte ve aktin filamentlerinin sitoplazmada serbest halde bulunduğu görülmektedir. Bu durum ise bize bakterinin bağlanma mekanizması ile hücre içine alındığını düşündürmüştür. Ayrıca Şekil 4.24’ te bulunan vakuol içindeki maddeler hücre bütünlüğünü koruyan bakterideki maddeler ile büyük benzerlik göstermektedir. Bu görüntü, tetiklenme mekanizması ile hücre içine alınan bir bakterinin sindirilmiş olabileceğini düşündüren bir görüntüdür. Fakat literatür taraması sonucu BV’ye neden olan mikroorganizmaların hücre içine hangi mekanizmalar ile alındığına dair her hangi bir makale bulunamamıştır.

Gerek ışık gerekse elektron mikroskobik incelemelerimiz sonucu clue cell tipi hücrede hücre zarının bazı bölgelerde deforme olduğu bazı bölgelerde ise eridiği

gözlenmiştir. Elektron mikroskopik gözlemlerimizde, bakteriyle epitel kaynaşması olduğu bölgede hücre zarının liziz olduğu diğer bölgelerde ise bütünlüğünü koruduğu dikkati çekmiştir. Ayrıca hücre sitoplazmasıyla kaynaşmış bakterilerde hücre duvar bütünlüğünün de bozulduğu dikkati çekmiştir. *G. vaginalis*'in epitel hücreleri, eritrositleri ve PMNL'leri lizize uğratan enzimler ürettiği, yapılan çeşitli araştırmalar sonucu ortaya konmuştur [118]. Gelber ve arkadaşları [119] ELİSA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay), Western- Blott gibi ileri teknikler kullanarak yaptıkları çalışmada *G. vaginalis*'in sitolizin ailesinden olan vajinolizin enzimini sentezlediğini ortaya koymuştur. Randis ve arkadaşlarının [120] yaklaşık bir yıl sonra hücre kültürü kullanarak yaptığı araştırma sonucunda da *G. vaginalis*'in bu enzimi sentezlediği doğrulanmıştır. Bizim çalışmamızda da ışık mikroskopik incelemede Şekil 4.1 ve şekil 4.2'deki görüldüğü gibi clue cell tipi hücrenin zarının deforme olmasının ve Şekil 4.24 ve şekil 4.25'te görüldüğü gibi lizize olmasının nedeni *G. vaginalis*'in salgıladığı vajinolizin enzim aktivitesi sonucu olabileceği düşünülmüştür.

Bakteri duvarındaki erimenin sonucu olarak gram (-) bakterilerde bulunan Lipid A molekülün açığa çıkmış olabileceği düşünülmüştür. Genç ve arkadaşları [29] servikovajinal örnekler kullanarak yaptıkları araştırma sonucu; *G. vaginalis* suşlarının TLR4 tarafından tanınarak, İnterlökin 1 β seviyesini arttırdığını ortaya koymuşlardır. Gram (-) bakterilerin dış zarında bulunan LPS üç bölümden oluşmaktadır. Bu bölgeler; dış zara gömülü Lipid A bölgesi, öz polisakkarit bölgesi ve O- polisakkarit bölgesidir. Lipid A bölgesi gram (-) bakterilerin endotoksin görevi yapan bölgesidir. Bu bölge epitel hücre yüzeyinde bulunan TLR4' ler tarafından tanınmakta ve immün sistemi harekete geçirmektedir [34,121]. İmmün sistem aktivitesi sonucu İnterlökin salgılandığı ve bunun da abortusa neden olduğu yapılan çalışmalarda bildirilmiştir [122]. Fakat Lipid A bölgesi dış zar içine gömülü olduğundan, bu bölgenin tanınabilmesi için bakteri hücre duvarının parçalanması gerekmektedir. Şekil 4.24 ve Şekil 4.25' te hücre zarıyla kaynaşmış bakterilerin hücre duvarı bütünlüğünün bozulması sonucu dış zara gömülü endotoksin görevi gören Lipid A molekülünün açığa çıktığı ve epitel hücre zarındaki TLR4 tarafından tanınarak immün sistemi harekete geçirdiği düşünülmüştür. İnterlökin seviyesinde bir artış olup olmadığını gözlemek için farklı yöntemler kullanılarak çeşitli çalışmaların yapılması gerekmektedir.

Işık mikroskopik inceleme sırasında gerek clue cell tipi hücrelerin üzerindeki bakterilerin gerekse serbest halde bulunan kok ve kokobasillerin eritrositlerle ilişkili olduğu dikkati çekmiştir. Rottini ve arkadaşlarının [118] yaptığı immünohistokimyasal bir araştırma ile *G. vaginalis*' in eritrositleri, epitel hücreleri ve PMNL'leri eriten 60 kDa büyüklüğünde bir enzim olan hemolizini salgıladığı ortaya konmuştur. *G. vaginalis*'in eritrositleri demir elde etmek amacıyla parçaladığı düşünülmektedir. Demirin birçok patojenik bakterinin yaşaması için gerekli elementlerden biri olduğu bilinmektedir ve BV'ye neden olan organizmaların da canlılıklarını sürdürebilmeleri için demire ihtiyacı vardır. Demir insan vücuduna serbest halde çok az miktarlarda bulunmaktadır. Bunun yanı sıra hemoglobin, hemin, ferritin ya da laktoferrin gibi proteinlere bağlı olarak bol miktarda yer almaktadır. *G. vaginalis* ise ilk olarak hemolizin enzimi salgılayarak eritrositleri parçalamakta ve demir bağlı protein olan hemoglobini ortaya çıkarmaktadır. Daha sonra yüksek affiniteli bir şelatör (şelat ajanı) olan "siderophore" ile taşıyıcı moleküle bağlı demiri ayırmakta ve kendine bağlamaktadır. Demiri kendine bağladıktan sonra ise, bakterinin hücre duvarına bağlı reseptör proteine getirmektedir. Bakteri ise demiri hücre içine almakta ve metabolik olayları için kullanmaktadır [39, 123]. Demir bağlama yöntemlerinden bir diğeri ise, direkt olarak hemeoglobin ya da laktoferrine bağlanan yüzey reseptörlerinin kullanılmasıdır. *G. vaginalis*' in hemoglobini direkt olarak bağlayan 124 kDa büyüklüğünde bir protein salgıladığı yapılan araştırmalarla ortaya konmuştur. Bu protein hemoglobin- bağlayan protein olarak adlandırılmaktadır [124]. Jarosik ve arkadaşlarının [125] yaptığı araştırmada ise *G.vaginalis*'in laktoferrin- bağlayan protein salgıladığı ortaya konmuştur. Şekil 4.1 ve Şekil 4.2' clue cell tipi hücrelerin eritrositler ile yakın ilişkide olduğu hatta bazı bölgelerde eritrositlerin clue cell hücreleri üzerindeki bakterilere yapıştığı görülmektedir. Şekil 4.6' da ise serbest halde bulunan kok ve kokobasillerin eritrositlere yapıştığı bölgede eritsoit zarlarının çukurlaştığı görülmüştür. Bu durum bize bakterilerin eritrosit zarlarını eriterek metabolik aktiviteleri için demir sağladıklarını düşündürmüştür.

BV (+) hastaların hepsinde (%100) serbest halde kok ve kokobasil bulunduğu, hiç birinde (%0) PMNL ve laktobasil bulunmadığı sitolojik inceleme sonucu ortaya konulan bulgular arasındadır. BV pozitifliği ile serbest kok-kokobasil varlığı, PMNL ve laktobasil yokluğu arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki olduğu

bulunmuştur ($p < 0.05$) (Çizelge 4.1). Bu bulgular diğer araştırmalarda yer alan sonuçlar ile uyum göstermektedir [57,92]. BV (-) hastaların ise 74'ünde (%38.34) laktobasil saptanmıştır. Bunun nedeni olarak menapoza girmiş hasta sayısının yüksek olması (193 hastanın 77'si) olarak düşünülmüştür. Çünkü menapoza giren bayanlarda vajinayı kaplayan çok katlı yassı epitelin katları ve dolayısıyla koruyuculuk özelliği azalmaktadır. Bu nedenle enfeksiyonlara açık hale gelmektedir. Ayrıca çok katlı yassı epitelin alt sıralarında bulunan bazal ve parabazal hücrelerde glikojen miktarı intermediyet hücrelerdeki glikojen miktarından daha azdır. Buna bağlı olarak da Laktobasiller gelişimlerini tamamlamak için yeterli glikojeni bulamamaktadır.

Işık mikroskopik inceleme sırasında BV(+) olan hastalardan 1'inde (%14.28) ASCUS sınıflamasına ait hücreler de görülmüştür (Şekil 4.7). Yaymasında clue cell hücrelerinin ve serbest kok-kokobasillerin görüldüğü bir olguda hücrelerin ASCUS sınıfı atipi gösterdiği saptanmıştır. Bu atipik değişiklikler ise, çekirdeklerin irileşmesi, hafif hiperkromatizm ve az oranda çekirdek zarında girintiler ve çıkıntılar şeklindeki değişikliklerdir. BV tanısı almış bu olguda ASCUS sınıfı atipiyeye rastlanmış olması enfeksiyon olgularının zamanla hücre çekirdeğinde de değişiklikler oluşturabileceğini, bu nedenle BV olgularının tanı verilir verilmez tedavi edilmesi gerektiğini düşündürmüştür. Literatürde yer alan çalışmalarda BV olgularında ASCUS görülme sıklığının diğer olgulara göre daha yüksek olduğu belirtilmiştir ancak ASCUS ile BV arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki bulunduğu yani her BV enfeksiyonu geçiren hastada ASCUS tipi atipi görülmeğine dair bir makaleye rastlanamamıştır [126].

Sitolojik inceleme sonucu saptanan ilginç bulgulardan biri de BV (+) hastalardan birinde (%14.28) *Trichomonas vaginalis*' e rastlanmış olmasıdır (Şekil 4.9). *Trichomonas vaginalis* (TV) mitokondirisi olmayan fakültatif anerob bir protozoondur. Enerji üretimi ise hidrogenozom adı verilen organelde piruvat ferrioksin oksidoreduktaz sistemi ile gerçekleşmektedir. TV laktobasilleri fagosite edebilmektedir. Sağlıklı bayanlarda %95 oranında Laktobasil bulunmaktadır. Laktobasiller glikojeni metabolize ederek laktik asit üretmekte ve hidrojen peroksit salgılayarak vajinal pH'yı asidik tutmaktadır. Dolayısıyla Laktobasiller vajinal florayı çeşitli patojenlere karşı korumaktadırlar. TV ise vajinal laktobasilleri fagosite ederek pH'nın yükselmesine neden olmakta ve bu koruyucu bariyeri kırmaktadır.

pH'nın yükselmesi, TV yanı sıra diğer anaerobik ve fakültatif anaerobik mikroorganizmalar olan *G. vaginalis*, *Mobiluncus*, *Mycoplasma hominis*, *Peptostreptococcus* ve *Ureaplasma urealyticum* gibi BV etkeni bakterilerin üremesine neden olmaktadır [127, 128]. Heller ve arkadaşları yaptıkları araştırmada BV (+) olan hastalarda TV görülme sıklığının daha yüksek olduğunu ortaya koymuşlardır [129]. Bizim çalışmamızda TV ve BV'nin bir arada görüldüğü yaymada Laktobasil görülmemiştir. Bu durum bize vajinal ortamda bulunan TV'nin laktobasilleri fagosite ettiğini ve BV için zemin hazırladığını düşündürmüştür. Şekil 4.9'da clue cell tipi hücreye yapışmış bir TV görülmektedir. Fakat TV ve BV'nin bir arada bulunduğu hasta sayısı 1 olduğu için istatistiksel bir değerlendirme yapılmamıştır.

BV (+) 2 (%28.57) hastada dikkati çeken diğer bir bulgu ise metaplazik hücre gruplarının görülmüş olmasıdır. BV (-) hastaların ise 39'unda (%19.17) metaplaziye rastlanmıştır (Şekil 4.5). Metaplazinin enfeksiyona bağlı olarak kronik bir irritasyon, bir hasar ya da mekanik bir travmaya bağlı olarak meydana geldiği bilinmektedir [130]. Kronik enfeksiyonların da metaplaziye neden olabileceği bildirilmiştir [131]. BV'nin ise biofilm oluşumu nedeniyle tekrar eden bir enfeksiyon olduğu yapılan araştırmalarla ortaya konmuştur [45]. Bizim çalışmamızda ise BV (+) olan hastalarda enfeksiyon sonucu metaplazi olabileceği düşünülmüştür. Ayrıca bu iki hastadan birinin geçmişte *Actinomyces* enfeksiyonu ve fungal enfeksiyon geçirdiği de gözlenmiştir. Bu durum bize sık enfeksiyon geçirmesi sonucu metaplazi gözlenebileceğini düşündürmüştür.

BV enfeksiyonunda gözlenen klinik şikayetler, akıntı ve kaşıntıdır. Fakat BV enfeksiyonu saptanan hastaların %50'sinde klinik şikayet gözlenmediği, klinik belirti gösteren hastalarda ise balık kokusu tarzında akıntı gözlendiği belirtilmiştir. Bunun yanı sıra nadir olarak vulvovajinal kaşıntı ve yanmanın da görülebileceği bildirilmiştir [3, 57, 92]. Bizim çalışmamızda BV (+) olan hastaların 4'ünde (%57.14) akıntı gözlenmiştir. Ayrıca kontrol grubunda da en sık gözlenen şikayet akıntıdır. Buna rağmen BV pozitifliği ile akıntı arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki bulunamamıştır ($p>0.05$) (Çizelge 4.3). Bunun yanı sıra kontrol grubu hastalarında kaşıntı şikayeti gözlenmesine rağmen BV pozitif hastaların hiç birinde kaşıntı gözlenmemiştir. Bulgularımız literatürde yer alan bilgiler ile paralellik göstermektedir.

Sonuç olarak çalışmamızda BV (+) hastalar çalışma grubu olarak kabul edilmiş ve bakteri- epitel hücre ilişkisi hem ışık hem de elektron mikroskopik olarak detaylı bir şekilde incelenmiştir. Işık mikroskopik olarak clue cell tipi hücrelerin hem sitoplazmalarının hem de hücre zarlarının bakterilerle kaplı olduğu görülmüştür. Bu hücrelerin elektron mikroskopik incelemesi sırasında epitel hücrelerinin çevrelerinde çok sayıda bakteriye rastlanmış ve bu bakterilerin bazılarında pili olduğu görülmüştür. Bunun yanı sıra hücre zarının bu bakterilere aktin filamentlerinin yardımıyla sitoplazmik uzantılar çıkarttığı ortaya konmuştur. Ayrıca BV'ye neden olan bakterilerin biyofilm oluşturduğu ve bu biyofilm materyalinin fibriler yapıda olabileceği gösterilmiştir. Işık mikroskopik incelemeler sırasında ise hem clue cell tipi hücrelerin hem de serbest halde bulunan kok ve kokobasillerin eritrositlerle ilişkide olduğu gözlenmiştir. Hastalarda BV enfeksiyonu aranırken BV tanı kriterleri kullanılmış, BV pozitifliği ile, clue cell varlığı, serbest kok ve kokobasil varlığı, laktobasil yokluğu ve PMNL yokluğu arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki olduğu bulunmuştur ($p < 0.05$).

6. KAYNAKLAR

- [1] Pizarro- Cerda, J., Cossart, P., Bacterial adhesion and entry into host cells, *Cell*, 124,715-727, **2006**.
- [2] Kagnoff, M. F., Eckmann, L., Perspectives series: Host/Pathogen interactions: Epithelial cells as sensors for microbial infection, *The Journal of Clinical Investigation*, 100, no. 1, 6-10, **1997**.
- [3] Aviles, A.P.G., Zaragoza, M.C.O., Coria, A.I., Bacterial vaginosis a "Broad Overview", *Revista Latinoamericana de Microbiologia*, 41, 25-34, **1999**.
- [4] Amsel, R., Totten, P.A., Spiegel, C.A., Chen, K.C.S., Eschenbach D., Holmes K., K., Nonspecific vaginitis: Diagnostic criteria and microbial and epidemiologic associations, *The American Journal of the Medicine*,74, 14-22, **1983**.
- [5] Demirezen, Ş., Review of cytologic criteria of bacterial vaginosis: Examination of 2,841 papanicolaou- stained vaginal smears, *Diagnostic Cytopathology*, 29, no. 3, 156-158, **2003**.
- [6] Scott, T.G., Curran, M., Smyth, C., Electron microscopy of adhesive interactions between *Gardnerella vaginalis* and vaginal epithelial cells, McCoy cells and human red blood cells, *Journal of General Microbiology*, 135, 475-480, **1989**.
- [7] Kline, K.A., Falker, S., Dahlberg, S., Normark S., Henriques-Normark, Bacterial adhesins in host- microbe interactions, *Cell Host & Microbe*, 5, 580-592, **2009**.
- [8] Vollmer, W., Bertsche, U., Murein (peptidoglycan) structure, architecture and biosynthesis in *Escherichia coli*, *Biochemica at Biophysica Acta*,1778, 1714-1734, **2008**.
- [9] Nikaido, H., Vaara, M., Molecular basis of outer membran permeability, *Microbiology and Molecular biology reviews*, 49, no. 1, 1-32, **1985**.
- [10] Beveridge, T.J., Structures of gram-negative cell walls and their derived membrane vesicles, *Journal of Bacteriology*, 181, no. 16, 4725-4733, **1999**.
- [11] Costerton, C.W., Ingram, J., M., Cheng, K.J., Structure and function of the cell envelope of gram-negative bacteria, *Bacteriological Reviews*, 38, no. 1, 87-110, **1974**.
- [12] Black, J., G., Characteristics of prokaryotic and eukaryotic cells. *Microbiology*, 8. Edition, Wiley Publisher, **2013**.
- [13] Navarre, W.W., Schneewind, O., Surface proteins of gram-positive bacteria and mechanisms of their targeting to the cell wall envelope, *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 63, no.1, 174-229, **1999**.
- [14] Desvaux, M., Dumas, E., Chafsey, I., Hebraud, M., Protein cell surface display in Gram-positive bacteria: from single protein to macromolecular protein structure, *Federation of European Microbiological Societies: Microbiology Letters*, 256,1-15, **2006**.

- [15] Wheelock, M., J., Johnson, K., R., Cadherins as modulators of cellular phenotype, *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 19,207-235, **2003**.
- [16] Takeichi, M., Morphogenetic roles of classic cadherins, *Current opinion in Cell Biology*, 7, 619-627, **1995**.
- [17] Aplin, A.E., Howe, A., Alahari, S.K., Juliano, R.L., Signal transduction and signal modulation by cell adhesion receptors: the role of integrins, cadherins, immunoglobulin-cell adhesion molecules, and selectins, *Pharmacological Reviews*, 50, no. 2, **1998**.
- [18] Juliano, R.L., Signal transduction by cell adhesion receptors and the cytoskeleton: Functions of integrins, cadherins, selectins, and immunoglobulin-superfamily members, *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 42, 283-323, **2002**.
- [19] Elangbam, C.S., Qualls, C.W., Dahlgren, R.R., Cell adhesion molecules-updates, *Veterinary Pathology*, 34, 61-73, **1997**.
- [20] Felix, J. C., Lonky, N. M., Tamura, K., Ken-Jen, Y., Naidu, Y., Chung-Rui, L., Lonky, S. A., Aberrant expression of E- cadherin in cervical intraepithelial neoplasia correlates with a false- negative papanicolaou smear, *American Journal of Obstetrics & Gynecology*, 186, 1308-13014, **2002**.
- [21] Politi, E. N., Lazaris, A. C., Kehriotis, M., Papathomas, T. G., Nikolakopoulou, E., Koutselini, H., Altered expression of adhesion molecules in inflammatory cervical smears, *Cytopathology*, 19,172-178, **2008**.
- [22] Demetter, P., Baeten, D., De Keyser, F., De Vos, M., Van Damme, N., Verbruggen, G., Vermeulen, S., Mareel M., Elewaut, D., Mielants, H., Veys, E. M., Cuvelier, C.A., Subclinical gut inflammation in spondyloarthropathy patients is associated with upregulation of the E-cadherin/ catenin complex, *Annals of the Rheumatic Diseases*, 59, 211-216, **2000**.
- [23] Denk, C., Hülsken, J., Schwarz, E., Reduced gene expression of E-cadherin and associated catenins in human cervical carcinoma cell lines, *Cancer Letters*, 120, 185-193, **1997**.
- [24] Lecuit, M., Dramsi, S., Gottardi, C., Fedor-Chaiken, M., Gumbiner, B., Cossart, P., A single amino acid in E- cadherin responsible for host specificity towards to human pathogen *Listeria monocytogenes*, *The European Molecular Biology Organization Journal*, 18, no. 14, 3956-3963, **1999**.
- [25] Lien, E., Ingalls, R.R., Toll-Like receptors, *Critical Care Medicine*, 30, no.1, S1-S11, **2002**.
- [26] Takeda, K., Kaisho, T., Akira, S., Toll-Like receptors, *Annual Review of Immunology*, 21,335-376, **2003**.
- [27] Kang, J.Y., Lee, J., Structural biology of toll-like receptor family, *Annual Review of Biochemistry*, 80, 917-941, **2011**.

- [28] Akira, S., Takeda, K., Kaisho, T., Toll-Like receptors: critical proteins linking innate and acquired immunity, *Nature Immunology*, 2, no.8, 675-680, **2001**.
- [29] Genc, M. R., Vardhana, S., Delaney, M., L., Onderdonk, A., Tuomala, R., Norwitz, E., Witkin, S.S., Relationship between a toll-like receptor-4 gene polymorphism, bacterial vaginosis-related flora and vaginal cytokine responses in pregnant women, *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 116, 152-156, **2004**.
- [30] Peeters, M., Piot, P., Adhesion of *Gardnerella vaginalis* to vaginal epithelial cells: variables affecting adhesion and inhibition by metronidazole, *Genitourinary Medicine*, 61, 391-395, **1985**.
- [31] Scott, T. G., Symth, C.J., Haemagglutination and tissue culture adhesion of *Gardnerella vaginalis*, *Journal of General Microbiology*, 133,1999-2005, **1987**.
- [32] Osborn, M.J., Rosen S.M., Rothfield,L., Zeleznick, L.D., Horecker, B.L., Lypopolisaccharide of the gram- negative cell wall, *Science*, 145, no. 3634, 783-789, **1961**.
- [33] Madigan, M.T, Martinko, J., M., Stahl, A.D., Clark, D.P., Cell structure and function in bacteria and archaea. *Brock Bilogy of Microorganisms*, (eds: Espinoza, D., Cook, K., Cutt, S., Marcus, E., Mangelli, M., Wagner,A.), Benjamin Cummings Publishers, San Fransisco, 87-90, **2012**.
- [34] Raetz, C.R.H., Whitfield C., Lipopolysaccharide endotoxins, *Annual Review of Biochemistry*, 71, 635-700, **2002**.
- [35] Shands, J.W., Localization of somatic antigen on gram-negative bacteria by electron microscopy, *Journal of Bacteriology*, 90, no.1, 266-270, **1965**.
- [36] Ward, J.B., Teichoic and teichuronic acids: biosynthesis, assembly, and location, *Microbiological Reviews*, 45, no.2, 211-243, **1981**.
- [37] Gross, M., Cramton, S.E., Götz, F., Peschel, A., Key role of teichoic acid net charge in *Staphylococcus aureus* colonization of artificial surfaces, *Infection and Immunity*, 69, no.5, 3423-3426, **2001**.
- [38] Sauer, F.G., Mulvey, M.A., Schiling, J.D., Martinez, J.J., Hultgren, S.J., Bacterial pili: molecular mechanisms of pathogenesis, *Current Opininion in Microbiology*, 3, 65-72, **2000**.
- [39] Yeoman C.J., Yildirim, S., Thomas, S.M., Durkin, A.S., Torralba, M., Sutton, G., Buhay, C.J., Ding, Y., Dugan-Rocha, S.P., Muzny, D.M., Qin, X., Gibss, R.A., Legh, S.R., Stumpf, R., White, B.A., Highlander, S.K., Nelson, K.E., Wilson, B.A., Comparative genomics of *Gardnerella vaginalis* strains reveals substantial differences in metabolic and virulence potential, *Public Library of Science One*, 5, no.8, e12411, **2010**.
- [40] Thanassi, D.G., Saulino, E.T., Hultgren, S.J., The chaperone/usher pathway: a major terminal branch of the general secretory pathway, *Current Opininion in Microbiology*, 1, 223-231, **1998**.
- [41] Mah, T.C., O'Toole, G.A., Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents, *Trends in Microbiology*, 9, no.1, **2001**.

- [42] O'Toole, G., Kaplan, H.B., Kolter, R., Biofilm formation as microbial development, *Annual Review of Microbiology*, 54, 49-79, **2000**.
- [43] Watnick, W., Kolter, R., Biofilm, city of microbes, *Journal of Bacteriology*, 182, no.10, 2675-2679, **2000**.
- [44] Baillie, G.S., Douglas, L.J., Biofilm formation as microbial development, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 46, 397-403, **2000**.
- [45] Swidinski, A., Mendling, W., Loening-Baucke, V., Swidinski, S., Dörffel, Y., Scholze, J., Lochs, H., Verstraelen, H., An adherent *Gardnerella vaginalis* biofilm persists on the vaginal epithelium after standard therapy with oral metronidazole, *American Journal of Obstetrics & Gynecology*, 198, no.1, 97.e1-e6, **2007**.
- [46] Swidinski A., Mendling, M., Loening-Baucke, V., Ladhoff, A., Swidinski, S., Hale, L.P., Lochs, H., Adherent biofilms in bacterial vaginosis, *Obstetrics & Gynecology*, 106, no.5 (1), 1013-1023, **2005**.
- [47] Patterson, J.L., Stull-Lune, A., Girerd, P.H., Jefferson, K.K., Analysis of adherence, biofilm formation and cytotoxicity suggests a greater virulence potential of *Gardnerella vaginalis* relative to other bacterial vaginosis-associated anaerobes, *Microbiology*, 156, 392-396, **2010**.
- [48] Wiggins, R., Hicks, S.J., Soothill, P.W., Millar, M.R., Corfield, A.P., Mucinases and sialidases: their role in the pathogenesis of sexually transmitted infections in the female genital tract, *Sexually Transmitted Infections*, 77, 402-408, **2001**.
- [49] Howe, L., Wiggins, R., Soothill, P.W., Millar, M.R., Horner, P.J., Corfield, A.P., Mucinase and sialidase activity of the vaginal microflora: implications for the pathogenesis of preterm labour, *International Journal of STD & AIDS*, 40, 442-447, **1999**.
- [50] Briselden, A.M., Moncla, B.J., Stevens C.E., Hillier S.L., Sialidases (Neuraminidases) in bacterial vaginosis and bacterial vaginosis-associated microflora, *Journal of Clinical Microbiology*, 30, no.3, 663-666, **1992**.
- [51] Olmsted, S.S., Meyn, L.A., Rohan, L.C., Hillier, S.L., Glycosidase and proteinase activity of anaerobic gram-negative bacteria isolated from women with bacterial vaginosis, *International Journal of STD & AIDS*, 12, suppl.2, 68-69, **2001**.
- [52] Morris, M., Nicoll, A., Simms, I., Wilson, J., Catchpole, M., Bacterial vaginosis: a public health review, *British Journal of Obstetrics and Gynecology*, 108, 439-450, **2001**.
- [53] Livengood, C.H., Bacterial vaginosis: An overview for 2009, *Reviews in Obstetrics & Gynecology*, 2, no.1, 28-37, **2009**.
- [54] Blackwell, A., Barlow, D., Clinic diagnosis of anaerobic vaginosis (non-specific vaginitis), *The British Journal of Venereal Disease*, 58, 387-393, **1982**.
- [55] Chaim, W., Mazor, M., Leiberman J. R., The relationship between bacterial vaginosis and preterm birth. A review, *Archives of Gynecology and Obstetrics*, 259, 51-58, **1997**.

- [56] Boris, S., Barbes, C., Role played by lactobacilli in controlling the population of vaginal pathogens, *Microbes and Infection*, 2, 543-546, **2000**.
- [57] Wang, J., Bacterial vaginosis, *Primary care update for Obstetrics/ Gynecology*, 7, no.5, 181-185, **2000**.
- [58] Tao, L., Pavlova, S.I., Kılıç, .O., Phages and bacterial vaginosis. *Phages: Their Role in Bacterial Pathogenesis and Biotechnology* (eds: Waldor, M.K., Friedman, D.I., Adhya, S, L.) ASM press, Washington D.C., 256-179, **2005**.
- [59] Sobel, J.D., Bacterial vaginosis, *UpToDate*, **2012**, http://www.uptodate.com/contents/bacterial-vaginosis?source=search_result&search=bacterial+vaginosis&selectedTitle=1~84
- [60] Sobel, J.D., Vaginitis, *The New England Journal of Medicine*, 337, no.26, 1897-1903, **1997**.
- [61] Hashemi, F.B., Ghassemi, M., Roebuck, K.A., Spear G.T., Activation of human immunodeficiency virus type 1 expression by *Gardnerella vaginalis*, *The Journal of Infectious Diseases*, 179, 924-930, **1999**.
- [62] Catlin, B. W., *Gardnerella vaginalis*: Characteristics, clinical considerations, and controversies, *Clinical Microbiology Reviews*, 5, no.3, 213-237, **1992**.
- [63] Greenwood, J.R., Pickett, M.J., 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, no.1, 170-178, **1980**.
- [64] Harwich, M.D., Alves, J.M., Buck, G.A., Strauss, J.F., Patterson, J.L., Oki, A.T., Girerd, P.H., Jefferson, K.K., Drawing line between commensal and pathogenic *Gardnerella vaginalis* through genome analysis and virulence studies, *BMC Genomics*, 11:375, **2010**.
- [65] Sadhu, K., Domingue, P.A.G., Chow, A.W., Nelligan, J., Cheng, N., Costerton J. W., *Gardnerella vaginalis* has a gram-positive cell-wall ultrastructure and lacks classical cell-wall lipopolysaccharide, *Journal of Medical Microbiology*, 29, 229-235, **1989**.
- [66] Aroutcheva, A. A., Simoes J.A., Behbakht, K., Faro, S., *Gardnerella vaginalis* isolated from patients with bacterial vaginosis and from patients with healthy vaginal ecosystems, *Clinical Infectious Diseases*, 33, 1022-1027, **2001**.
- [67] Spiegel, C.A., Roberts, M., *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, no.2, 177-184, **1984**.
- [68] Carlone G.M., Thomas M.L., Arko R. J., Guerrant G.O., Moss, C.W., Swenson, J.M., Morse, S.A., Cell wall charecteristic of *Mobiluncus* Species, *Internation Journal of Systematic Bacteriology*, 36, no.2, 288-296, **1986**.

- [69] Spiegel, C.A., Eschenbach, D.A., Amsel, R., Holmes, K.K., Curved anaerobic bacteria in bacterial (Nonspecific) vaginosis and their response to antimicrobial therapy, *The Journal of Infectious Disease*, 148, no.5, 817-822, **1983**.
- [70] Vetere, A., Borriello, S.P., Fontaine, E., Reed, P.J., Taylor-Robinson, D., Characterisation of anaerobic curved rods (*Mobiluncus* spp.) isolated from the urogenital tract, *Journal Of Medical Microbiology*, 23, 279-288, **1987**.
- [71] Krohn, M.A., Hillier, S.L., Eschenbach D.A., Comparison of methods for diagnosing bacterial vaginosis among pregnant women, *Journal of Clinical Microbiology*, 27, no.6, 1266-1271, **1989**.
- [72] Roberts, M.C., Hillier, S.L., Schoenknecht, F.D., Holmes, K.K., Comparison of gram stain, dna probe, and culture for the identification of species of *Mobiluncus* in female genital specimens, *The Journal of Infectious Diseases*, 152, no.1, 74-77, **1985**.
- [73] Cook, R.L., Reid, G., Pond, D.G., Schmitt, C.A., Sobel, J.D., Clue Cells in bacterial vaginosis: Immunofluorescent identification of the adherent gram-negative bacteria as *Gardnerella vaginalis*, *The Journal of Infectious Diseases*, 160, no.3, 490-496, **1989**.
- [74] Brooks, G. F., Butel, J. S., Ornston, L. N., Jawetz, Melnick & Adelberg's Infections caused by anaerobic bacteria. *Medical Microbiology*, (eds: Dolan, J., Langan, C.) Appleton & Lange, London, 252-272, **1995**.
- [75] Smith C.J., Rocha, E.R., Paster, B.J., The medically important bacteroides spp. in health and disease. *The Prokaryotes, Vo: 7*, (eds: Dworkin M, Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K., Stackebrandt, E.), Springer, 381-420, **2006**.
- [76] Finegold, S.M., Baron, E.J., *Bailey and Scott's Daignostic Microbiolgy*, 7th ed. Mosby Company, **1986**.
- [77] Braude, A.I., Davis, C.E., Fierer, J., *Infectious Disease and Medical Microbiology*, W.B. Saunders Company, **1985**.
- [78] Mahon, C.R., Manuselis, G., *Textbook of Diagnostc Microbiology*, W.B. Saunders Company, **2000**.
- [79] Koneman, E.W., Identification of anaerobic bacteria. *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*, (eds: Winn, C.W., Allen, S.D., Janda, W.M., Procop, G.W., Schreckenberger, P., Woods, G.L.) Lippincott Williams & Wilkins, 913-926, **2005**.
- [80] Taylor- Robinson, D., Infections Due to species of *Mycoplasma* and *Ureaplasma*: An update, *Clinical Infectious Diseases*, 23, 671-684, **1996**.
- [81] Mardh, P.A., Elshibly, S., Kallings, I., Hellberg, D., Vaginal flora changes associated with *Mycoplasma hominis*, *American Journal Of Obstetrics and Gynecology*, 176, no.1, 173-178, **1997**.
- [82] Cassell, G.H., Waites K.B., Watson, H.L., Crouse, D.T., Harasawa, R., *Ureaplasma urealyticum* intrauterine infection: Role in prematurity and disease in newborns, *Clinical Microbiology Reviews*, 6, no.1, 69-87, **1993**.

- [83] Snah, H.N., Collins, D.M., *Prevotella*, a new genus to include *Bacteroides melaninogenicus* and related species formerly classified in the genus *Bacteroides*, *International Journal of Systematic Bacteriology*, 40, no.2, 205-208, **1990**.
- [84] Jousimies-Somer, H.R., Update on the taxonomy and the clinical and laboratory characteristics of pigmented anaerobic gram-negative rods, *Clinical Infectious Diseases*, 20, suppl.2, S187-191, **1995**.
- [85] Jovita, M.R., Collins, M.D., Sjöden, B., Falsen, E., Characterization of a novel *Atopobium* isolate from the human vagina: description of *Atopobium vaginae* sp. nov., *International Journal of Bacteriology*, 49, 1573-1576, **1999**.
- [86] Ferris, M.J., Mastzal, A., Martin, D.H., Use of species-directed 16s rna gene pcr primers for detection of *Atopobium vaginae* in patients with bacterial vaginosis, *Journal of Clinical Microbiology*, 42, no.12, 5892-5894, **2004**.
- [87] Demirezen, Ş., Mutlu, A., Beksaç, S., Bacterial vaginosis: bacterial and epithelial cell adhesion molecules, *Gynecology, Obstetrics & Reproductive Medicine*, **Basımda**.
- [88] Sachdeva, S., Clue cell, *Indian Journal of Dermatology, Venerology and Leprology*, 72, no.5, 392-393, **2006**.
- [89] Discacciati, M.G., Simoes, J.A., Amaral, R.G., Brolazo, E., Rabelo-Santos, S.H., Westin, M.C.A., Montemor, E.B.L., Presence of 20% or more clue cells: An accurate criterion for the diagnosis of bacterial vaginosis in papanicolaou cervical smears, *Diagnostic Cytopathology*, 34, no.4, 272-276, **2006**.
- [90] MacPherson, G., Austyn, J., *Exploring Immunology Concepts and Evidence*, Wiley – Blackwell, **2012**.
- [91] Di Carlo, E., Forni, G., Lollini, P., Colombo, M.P., Modesti, A., Musiani, P., The intriguing role of polymorphonuclear neutrophils in antitumor reactions, *Blood*, 97, no.2, 339-345, **2001**.
- [92] Biswas, M.K., Bacterial vaginosis, *Clinical Obstetrics and Gynecology*, 36, no.1, **1993**.
- [93] Al-Mushrif, S., Eley, A., Jones, B.M., Inhibition of chemotaxis by organic Acids from anaerobes may prevent a purulent response in bacterial vaginosis, *Journal of Medical Microbiology*, 49, no. 11, 1023-1030. **2000**.
- [94] Rottini, G., Dobrina, A., Forgiarini, O., Nardon, E., Amirante, G.A., Patriarca, Identification and partial characterization of a cytolytic toxin produced by *Gardnerella vaginalis*, *Infection and Immunity*, 58, no.11, 3751-3758, **1990**.
- [95] Mashburn, J., Etiology, diagnosis and management of vaginitis, *Journal of Midwifery & Women's Health*, 51, no.6, **2006**.
- [96] Vallor, A.C., Antonio, M.A.D., Hawes, S.E., Hillier, S.L., Factors associated with acquisition of, or persistent colonization by, vaginal lactobacilli: role of

- hydrogen peroxide production, *The Journal of Infectious Diseases*, 184, 1431-1436, **2001**.
- [97] Witkin, S.S., Linhares, I.M., Giraldo, M., Bacterial flora of the female genital tract: function and immune regulation, *Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology*, 21, no.3, 347-354, **2007**.
- [98] Turovskiy, Y., Noll, K.S., Chikindas, M.L., The aetiology of bacterial vaginosis, *Journal of Applied Microbiology*, 110, 1105-1128, **2011**.
- [99] Eschenbach, D.A., Davick, P.R., Williams, B.L., Klebanoff, S.J., Young-Smith, K., Critchlow, C.M., Holmes, K.K., Prevalence of Hydrogen peroxide producing *Lactobacillus* species in normal women and women with bacterial vaginosis, *Journal of Microbiology*, 27, no.2, 251-256, **1989**.
- [100] Chen, K.C.S., Forsyth, P.S., Buchanan, T.M., Holmes, K.K., Amine content of vaginal fluid from untreated and treated patients with nonspecific vaginitis, *Journal of Clinical Investigations*, 63, 825-835, **1979**.
- [101] Davis, J.D., Connor, E.E., Clark, P., Wilkinson, E.J., Duff, P., Correlation between, cervical cytologic results and Gram stain as diagnostic tests for bacterial vaginosis, *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 177, no.3, 532-535, **1997**.
- [102] Spiegel, C.A., Amsel, R., Holmes, K.K., Diagnosis of bacterial vaginosis by direct gram stain of vaginal fluid, *Journal of Clinical Microbiology*, 18, no.1, 170-177, **1983**.
- [103] Nugent, R.P., Krohn, M.A., Hillier, S.L., Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of gram stain interpretation, *Journal of Clinical Microbiology*, 29, no.2, 297-301, **1991**.
- [104] Myziuk, L., Romanowski, B., Johnson, S.C., BVBlue test for diagnosis of bacterial vaginosis, *Journal of Clinical Microbiology*, 41, no.5, 1925-1928, **2003**.
- [105] Bradshaw, C.S., Morton, A.N., Garland, S.M., Horvath, L.B., Kuzevska, I., Fairley, C.K., Evaluation of a point-of-care test, bvblue, and clinical and laboratory criteria for diagnosis of bacterial vaginosis, *Journal of Clinical Microbiology*, 43, no.3, 1304-1308, **2005**.
- [106] Obata-Yasuoka, M., Ba-Thein, W., Hamada, H., Hayashi, H., A Multiplex polymerase chain reaction-based diagnostic method for bacterial vaginosis, *Obstetrics and Gynecology*, 100, no.4, 759-764, **2002**.
- [107] Sha, B.E., Chen, H.Y., Wang, Q.J., Zarrifard, M.Z., Cohen, M.H., Spear, G.T., Utility of amsel criteria, nugent score, and quantitative PCR for *Gardnerella vaginalis*, *Mycoplasma hominis*, and *Lactobacillus* spp. for diagnosis of bacterial vaginosis in human immunodeficiency virus-infected women, *Journal of Clinical Microbiology*, 43, no.9, 4607-4612, **2005**.
- [108] Joesoef, M.R., Schmid, G.P., Bacterial vaginosis: Review of treatment options and potential clinical indications for therapy, *Clinical Infectious Diseases*, 20, suppl.1, S72-79, **1995**.
- [109] Baylson F.A., Nyirjesy, P., Weitz V., Treatment of recurrent bacterial vaginosis with tinidazole, *Obstetrics and Gynecology*, 104, no.5, part. 1, 931-932, **2004**.

- [110] Hallen, A., Jarstrand, C., Pahlson, C., Treatment with bacterial vaginosis with *Lactobacilli*, *Sexually Transmitted Diseases*, 19, no.3, 146-148, **1992**.
- [111] McLean, N.W., Rosestein, I.J., Characterisation and selection of a *Lactobacillus* species to re-colonise the vagina of women with recurrent bacterial vaginosis, *Journal of Medical Microbiology*, 49, 543-552, **2000**.
- [112] Johnson, A.P., Davies, H.A., Demonstration by electromicroscopy of pili on *Gardnerella vaginalis*, *The British Journal of Venereal Disease*, 60, 396-397, **1984**.
- [113] Lawrence J. R., Swerhone, G.D.W., Leppard, G.G., Araki, T., Zhang, X., West, M.M, Hitchcock, A.P., Scanning transmission X-Ray, laser scanning, and transmission electron microscopy mapping of the exopolymeric matrix of microbial biofilms, *Applied and Environmental Microbiology*, 69, no.9, 5543-5554, **2003**.
- [114] Dramsi, S., Cossart, P., Intracellular pathogens and the actin cytoskeleton, *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 14, 137-166, **1998**.
- [115] Adam, T., Arpin, M., Prevost, M.C., Gounon, P., Sansonetti, P.J., Cytoskeletal rearrangements and the functional role of t-plastin during entry of shigella flexneri into hela cells, *The Journal of Cell Biology*, 129, no.2, 367-381, **1995**.
- [116] Finlay, B.B., Cossart, P., Exploitation of mammalian host cell, *Functions by Bacterial Pathogens*, *Science*, 276, 718-725, **1997**.
- [117] Galan, J.E., Bliska, J.M., Cross – Talk between bacterial pathogens and their host cells, *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 12, 221-255, **1996**.
- [118] Rottini, G., Dobrina, A., Forgiarini, O., Nardon, E., Amirante, G.A., Patriarca, P., Identification and partial characterization of a cytolytic toxin produced by *Gardnerella vaginalis*, *Infection and Immunity*, 58, no.11, 3751-3758, **1990**.
- [119] Randis T. M., Kulkarni, R., Aguilar, J. L., Ratner, A. J., Antibody-Based Detection and Inhibition of Vaginolysin, the *Gardnerella vaginalis* Cytolysin, *Public Library of Science One*, 4, iss.4, e5207, **2009**.
- [120] Gelber, S.E., Aguilar, J.L., Lewis, K.L.T., Ratner, A.J., Functional and phylogenetic characterization of vaginolysin, the human-specific cytolysin from *Gardnerella vaginalis*, *Journal of Bacteriology*, 190, no. 11, 3896 – 3903, **2008**.
- [121] Ulevitch, R.J., Tobias, P.S., Recognition of gram-negative bacteria and endotoxin by the innate immune system, *Current Opinion in Immunology*, 11, 19-22, **1999**.
- [122] MacLean, MA., Wilson, R., Jenkins, C., Miller, H., Walker, JJ., Interleukin-2 receptor concentrations in pregnant women with a history of recurrent miscarriage, *Human Reproductive* 17, 219-220, **2002**.
- [123] Jarosik, G. P., Land, C.B., Duhon, P., Chandler, R., Mercer, T., Acquisition of iron by *Gardnerella vaginalis*, *Infection and Immunity*, 66, no. 10, 5041-5047, **1998**.

- [124] Jarosik, G. P., Identification of a *Gardnerella vaginalis* hemoglobin-binding protein, *Current Microbiology*, 42, 49-52, **2001**.
- [125] Jarosik, G.P., Land, C.B., Identification of a human lactoferrin-binding protein in *Gardnerella vaginalis*, *Infection and Immunity*, 68, no.6, 3443-3447, **2000**.
- [126] Barcelos, A.M.C., Adad, S.J., Michelin, M.A., Murta, E.F.C., Atypical squamous cells of undetermined significance: Analysis of microbiology, cytological criteria and clinical conduct, *Tumori*, 92, 213-218, **2006**.
- [127] Wang, J., Trichomoniasis, *Primary Care Update for Obstetrics/Gynecology*, 7, no.4, 148-153, **2000**.
- [128] Demirezen, Ş., Korkmaz, E., Beksaç, M.S., Association between trichomoniasis and bacterial vaginosis: Examination of 600 cervicovaginal smears, *Central European Journal of Public Health*, 13, no.2, 96-98, **2005**.
- [129] Heller, D.S., Maslyak, S., Skurnick, J., Is the presence of Trichomonas on a pap smear associated with an increased incidence of bacterial vaginosis?, *Journal of Lower Genital Tract Disease*, 10, no.3, 137-139, **2006**.
- [130] Koss, GL., *Diagnostic Cytology and Its Histopathologic Bases, volume I*, 5th ed., J.B. Lippincott Company, **1992**.
- [131] Heidth, P.J., Carter, P.B., Rucsh, V.D., Waaij, D.V.D., *Vaginal Flora in Health and Disease*, Herborn Litterae, **1995**.

ÖZGEÇMİŞ

Kimlik Bilgileri

Adı Soyadı : Aydan MUTLU
Doğum Yeri : Burhaniye
Medeni Hali : Bekar
E- posta : aydan.mutlu00@gmail.com
Adresi : H.Ü. Biyoloji Bölümü, Genel Biyoloji A.B.D.

Eğitim

Lise : 2003-2007 Burhaniye Yabancı Dil Ağırlıklı Lisesi
Lisans : 2007-2011, H.Ü., Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü
Yüksek Lisans : 2011-2013, H.Ü., Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü

Yabancı Dil Düzeyi

İngilizce- Upper Intermediate