



**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**VAJİNAL MİKROBİYOTANIN BAKTERİYEL VAJİNOZİS VE
HUMAN PAPİLLOMAVİRUS İLE İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ
DR. SEDEF ZELİHA ÖNER**

**DANIŞMAN
PROF.DR. İLKNUR KALELİ**

DENİZLİ - 2018



**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**VAJİNAL MİKROBİYOTANIN BAKTERİYEL VAJİNOZİS VE
HUMAN PAPİLLOMAVİRUS İLE İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

DR. SEDEF ZELİHA ÖNER

DANIŞMAN

PROF.DR. İLKNUR KALELİ

Bu çalışma Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'nin 29.03.2017 tarih, 6 nolu kararı ve 2017TPF005 proje no ile desteklenmiştir.

DENİZLİ - 2018

TEZ ONAYI

Prof. Dr. İlknur KALELİ danışmanlığında Dr. Sedef Zeliha ÖNER tarafından yapılan “Vajinal Mikrobiyotanın Bakteriyel Vajinozis ve Human Papillomavirus İle İlişkisinin Araştırılması” başlıklı çalışma jürimiz tarafından Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı’nda TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

BAŞKAN

Prof. Dr. İlknur KALELİ

ÜYE

Prof. Dr. Çağrı ERGİN

ÜYE

Prof. Dr. Neriman AYDIN

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

.16.08.2018

Prof. Dr. Osman ÇİFTÇİ

Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanı

TEŞEKKÜR

Çalışmanın planlanmasında ve yürütülmesinde bilgi ve deneyimleriyle çalışmayı yönlendiren, desteğini esirgemeyen danışman hocam sayın Prof. Dr. İlknur KALELİ'ye teşekkürlerimi sunarım.

Asistanlık eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım hocalarım Prof. Dr. Çağrı ERGİN, Prof. Dr. Melek DEMİR, Yard. Doç. Dr. Mustafa ŐENGÜL ve Yard. Doç. Dr. Ergun METE' ye, örneklerin toplanması için kliniğini bize açan Prof. Dr. Babür KALELİ'ye, tezimin istatistik çalışmalarında bana destek olan sevgili Hande ŐENOL'a, asistanlık eğitimim süresince beraber eğitim aldığım Levent AKSOY'a ve tüm mesai arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Beni bugünlere getiren anneme, anlayışları için eşim ve çocuklarıma teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ONAY SAYFASI	Error! Bookmark not defined.
TEŞEKKÜR	IV
İÇİNDEKİLER	V
SİMGELER VE KISALTMALAR	V
ŞEKİLLER DİZİNİ	IX
TABLolar DİZİNİ	X
ÖZET	XI
SUMMARY	XIII
GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLER	2
MİKROBİYOTA	2
DİSBIYOZİS VE ÖBİYOZİS	2
VAJİNAL MİKROBİYOTA	2
Laktobasillerin Özellikleri	4
VAJİNAL FLORA	5
BAKTERİYEL VAJİNOZİS	7
<i>Gardnerella vaginalis</i>	9
BV İÇİN RİSK FAKTÖRLERİ	10
Etnik Köken	10
Sigara Kullanımı	10
Vajinal Hijyen Uygulamaları	10
Cinsel aktivite	11
Cinsel Yolla Bulaşan Enfeksiyonlar	11
BV İÇİN DOĞAL BAĞIŞIKLIK MEKANİZMALARI	11
BV Tanısında Kullanılan Yöntemler	12
Amsel Kriterleri	12
Gram Boyama	13
Sitoloji	15
Kültür	15
Ticari Testler	15

Araştırma Testleri	15
Human Papillomavirus (HPV).....	16
HPV' nin Genetik Yapısı.....	17
HPV Yaşam Döngüsü.....	17
HPV Enfeksiyonunun Doğal Seyri	19
Genotipler ve Doku Tropizmi.....	19
Mukozal Papillomavirus Enfeksiyonları	19
Kondiloma Akuminata.....	19
Fokal Epitelyal Hiperplazi.....	20
Servikal Neoplazi ve Serviks Kanseri	20
Vulva, Vajina, Penis ve Anüste Dahil Olmak Üzere Anogenital Kanserler	20
Baş boyun kanserleri.....	21
Kutanöz Papillomavirus Enfeksiyonları	21
HPV Epidemiyoloji	21
HPV Enfeksiyonu İçin Risk Faktörleri.....	22
Vajinal Mikrobiyota ve HPV İlişkisi.....	23
HPV TANI.....	25
HPV Enfeksiyonunun Tanısında Moleküler Olmayan Yöntemler.....	25
HPV Moleküler Tanı Yöntemleri	25
GEREÇ VE YÖNTEM.....	26
ÇALIŞMA GRUPLARININ OLUŞTURULMASI	26
Hasta Grubu	26
Kontrol Grubu.....	26
Etik Kurul Onayı.....	27
ÖRNEKLERİN TOPLANMASI.....	27
KULLANILAN CİHAZLAR(HPV)	27
KULLANILAN SARF MALZEMELERİ(HPV).....	27
HPV ÇALIŞMASI.....	28
ABBOTT m2000sp izolasyon cihazı kullanımı	28
Ekstraksiyon Adımları	28
Master Mix Ekleme Adımları.....	28
Örnek barkodlarını m2000rt cihazına aktarma	28

m2000rt Cihazı Tetkik Yükleme Adımları.....	28
KULLANILAN CİHAZLAR (BV).....	28
KULLANILAN SARF MALZEMELERİ (BV)	28
BV Pozitifliği ve Negatifliği Tespiti.....	29
KULLANILAN CİHAZLAR (Vajinal mikroorganizma)	29
KULLANILAN SARF MALZEMELERİ (Vajinal mikroorganizma).....	29
Genomik DNA izolasyon kiti içeriği.....	29
VAJİNAL MİKROORGANİZMALARIN TESPİT EDİLMESİ.....	30
DNA izolasyonu	30
PRİMERLER.....	31
Real-Time PCR ile Mikroorganizma Deteksiyonu... ..	32
Primer ara stok hazırlanışı	32
Kullanılan Enzim, Reaksiyon Karışımının Hazırlanışı	32
Cihaz protokolü	33
KULLANILAN CİHAZLAR (<i>Gardnerella vaginalis</i> subsp.).....	34
KULLANILAN SARF MALZEMELERİ (<i>Gardnerella vaginalis</i> subsp.) .	34
Roche High Pure PCR Template İçeriği.....	34
Real-Time PCR ile <i>Gardnerella vaginalis</i> ssp. saptanması	35
DNA İZOLASYONU.....	35
DNA KONSANTRASYONLARININ BELİRLENMESİ.....	36
PRİMERLER.....	37
REAL-TIME PCR	37
Reaksiyon Karışımı	38
Cihaz Protokolü	38
Analiz.....	39
VERİLERİN ANALİZİ	39
BULGULAR.....	40
TARTIŞMA.....	56
SONUÇLAR.....	70
EK-1: Vajinal mikroorganizmalar, bakteriyel vajinozis ve HPV çalışması için anket formu.....	73
KAYNAKLAR	74

SİMGELER VE KISALTMALAR

BV: Bakteriyel vajinozis

HPV: İnsan papillomavirüs

CYBE: Cinsel yolla bulaşan enfeksiyonlar

VMB: Vajinal mikrobiyota

CST: Toplumsal tipler

NS: Nugent skoru

sIgA: Salgısal immünoglobulin A

NGAL: Nötrofil jelatinazla ilişkili lipokalin

PCR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

FISH: Flüoresan in situ hibridizasyon testi

CIN: Servikal intraepitelyal neoplazi

LSIL: Düşük dereceli skuamöz intraepitelyal lezyon

SCC: Skuamöz hücreli karsinomalar

HNSCC: Baş boyun skuamöz hücreli karsinomalar

ROS: Reaktif oksijen türlerini

AMP: Adenosine Monophosphate

ORF: Açık Okuma Çerçevesi

URR: Yukarı akış düzenleyici bölge

HR-HPV: Yüksek riskli HPV

MF: Menstrual Faz

PF: Proliferatif Faz

O: Ovulasyon

SF: Sekretuar Faz

KETEM: Kanser erken teşhis tarama ve eğitim merkezi

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Vajinal mikrobiyota toplumsal tiplerin ısı haritası	4
Şekil 2a. Karakteristik ipucu hücreleri.....	13
Şekil 2b. Karakteristik ipucu hücreleri.....	13
Şekil 3a. BV vajinal akıntı	14
Şekil 3b. Normal vajinal flora.....	14
Şekil 4. BV pozitif kadınların yaş gruplarına göre dağılımı	40
Şekil 5. BV negatif örneklerde PCR ile belirlenen bakterilerin yüzdeleri.....	43
Şekil 6. BV ara değer örneklerde PCR ile belirlenen bakterilerin yüzdeleri	44
Şekil 7. BV pozitif örneklerde PCR ile belirlenen bakterilerin yüzdeleri.....	44
Şekil 8. BV negatif, BV ara değer ve BV pozitif örneklerde PCR ile belirlenen bakterilerin birlikte yüzdeleri	45
Şekil 9: <i>Gardnerella vaginalis</i> “clade”lerin BV negatif, BV ara değer ve BV pozitif örneklerdeki yüzdeleri	48
Şekil 10: <i>G.vaginalis</i> “clade”lerin BV negatif, BV ara değer ve BV pozitif örneklerdeki tekli ve çoklu “clade” yüzdeleri.....	49
Şekil 11. HPV pozitif kadınların yaş gruplarına göre dağılımı	51
Şekil 12: HPV negatif örneklerde PCR ile belirlenen bakterilerin yüzdeleri	53
Şekil 13: HPV pozitif örneklerde PCR ile belirlenen bakterilerin yüzdeleri.....	53

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. Sağlıklı vajinal ekosistemden sıklıkla izole edilen bakteriler.....	6
Tablo 2. Nugent'in bakteriyel vajinoz tanısı için puanlama sistemi	14
Tablo 3. Primerler (vajinal mikroorganizma)	31
Tablo 4. Reaksiyon Karışımının Hazırlanışı (vajinal mikroorganizma).....	32
Tablo 5. Cihaz protokolü (vajinal mikroorganizma).....	33
Tablo 6. Primerler (<i>Gardnerella vaginalis</i> subsp.)	37
Tablo 7. Reaksiyon Karışımı (<i>Gardnerella vaginalis</i> subsp.)	38
Tablo 8. Cihaz Protokolü (<i>Gardnerella vaginalis</i> subsp.).....	38
Tablo 9. Araştırma grubunda BV negatif, BV ara değer ve BV pozitif kişilerin değişken dağılımı	42
Tablo 10: PCR ile belirlenen bakterilerin BV negatif, BV ara değer ve BV pozitif örnekler ile ilişkisi.	46
Tablo 11: BV pozitif örneklerde bakterilerin aynı anda saptanmaları	47
Tablo 12. “Clade”lerin BV negatif, BV ara değer, BV pozitif örneklerde tekli ve çoklu bulunması arasındaki ilişki.....	49
Tablo 13. <i>G.vaginalis</i> “clade”lerinin BV negatif, BV ara değer ve BV pozitif örnekler ile ilişkisi.....	50
Tablo 14. HPV negatif ve HPV pozitif kişilerin değişken dağılımı	52
Tablo 15. PCR ile belirlenen bakterilerin HPV pozitifliği ile ilişkisi	54
Tablo 16. HPV pozitif örneklerde bakterilerin aynı anda saptanmaları	55
Tablo17. HPV pozitifliği ve negatifliği ile BV negatif, BV ara değer ve BV pozitif gruplar arasındaki ilişki	55

ÖZET

Vajinal Mikrobiyotanın Bakteriyel Vajinozis ve Human Papillomavirus İle İlişkisinin Araştırılması

Dr.Sedef Zeliha Öner

Vajina, sağlık üzerine önemli etkileri olan çok sayıdaki bakteri türlerini barındırır. Vajinadaki mikrobiyal türlerin tipleri ve oranlarındaki değişiklikler hastalığa neden olabilir. Çalışma; vajinal mikrobiyotanın bakteriyel vajinozis ve Human papillomavirus ile ilişkisinin araştırılması amacıyla planlanmıştır.

Mart 2017 – Ekim 2017 tarihleri arasında Pamukkale Üniversitesi Eğitim Uygulama ve Araştırma Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Polikliniği'ne başvuran 145 kadın değerlendirilmeye alındı. Çalışmaya 121 kadın dahil edildi.

Yapılan Gram boyama değerlendirme sonucu, bakteriyel vajinozis (BV) negatif Nugent skoru (NS) 0-3 %39,7 (n=48) BV ara değer NS 4-6 %21 (n=26) BV pozitif NS 7-10 %38,8 (n=47) olarak tespit edildi. BV görülme oranı %38,8 olarak bulundu. BV pozitifliği en fazla 3. ve 4. dekatta görüldü. Kişilerin adet dönemleri (p=0.019), son ilişki zamanı (p=0,027), cinsel ilişkide korunan ve korunmayan kişiler arasında (p=0.002) istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu. BV pozitif ve negatif grupların laktobasil tür sayısı ortalamaları arasında anlamlı bir fark bulunmadı. Araştırılan (*G.vaginalis*, *Megasphaera*, *BVAB2*, *Provetella spp.*, *M.mulieris*, *Leptotrichia/Sneathia*) tür sayısı ortalaması BV pozitif örneklerde, BV ara değer ve BV negatif örneklere göre anlamlı olarak yüksek bulundu (p=0,001). *L.iners* tüm örneklerde en sık saptanan *Lactobacillus* türü idi. *M.mulieris* sadece BV örneklerinde tespit edildi. *Megasphaera* (p=0,036), *BVAB2* (p=0,036), *Provetella spp.* (p=0,036) ve *Leptotrichia/Sneathia* (p=0,036) dahil olmak üzere dört bakterinin BV ile ilişkili olduğu bulundu. BV ile ilişkili birkaç bakteri grubu birbirleriyle kuvvetle ilişkiliydi. *Provetella spp.* - *Megasphaera*, *Provetella spp.* - *Leptotrichia/Sneathia* ve *Provetella spp.* - *BVAB2*'nin aynı anda birlikte saptanmaları istatistiksel olarak ileri derecede anlamlıydı (p<0.001).

Katılımcıların arasından rastgele seçilen 50 kişi de *G.vaginalis* subtipleri çalışıldı. 50 kişinin 18 i (%36) BV negatif, 20 si (%40) BV ara değer, 12 si (%24) BV pozitif. En yaygın “clade” 4 suşu izole edildi. Örneklerin %25’inde “clade” 1, %20,8’inde “clade” 2, %16,7’inde “clade” 3, %38,5’inde “clade” 4 tespit edildi. Tüm örneklerin 17’ sinde (%34) tek “clade”, 33 (%66) tanesinde çoklu “clade” tespit edildi. “Clade”lerin gruplar arasında tekli ve çoklu bulunması istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. *G.vaginalis* “clade”lerinin BV negatif, BV ara değer ve BV pozitif örnekler ile ilişkisi incelendiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığın bulunmadığı görüldü.

Çalışmamızda HPV görülme oranı %9,9 olarak bulundu. En fazla HPV pozitifliği 3. ve 5. dekatta görüldü. HPV 16 %58,33 (n=7) en sık saptanan HPV tipi olarak tespit edildi. Diğer riskli gruplar %33,33 (n=4), HPV 18 %8,33 (n=1) olarak tespit edildi. Lojistik regresyon analizi ile yapılan risk faktörü incelemesinde gruplar arasında medeni durum anlamlı risk faktörü olarak bulundu (p=0.021 OR=4.48). Bekar olan kişilerin HPV pozitif olma riski evli olan kişilere göre 4,48 kat daha fazlaydı. HPV pozitif ve negatif gruplarda laktobasil tür sayısı ortalamaları ve araştırılan (*G.vaginalis*, *Megasphaera*, *BVAB2*, *Provetella spp.*, *M.mulieris*, *Leptotrichia/Sneathia*) tür sayısı ortalamaları anlamlı bir farklılığa sahip değildi. Araştırılan bakterilerle HPV pozitifliği arasındaki ilişki değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi. HPV pozitifliği ve negatifliği ile BV negatif, BV ara değer ve BV pozitif gruplar arasındaki ilişki değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı.

Bu araştırmadan elde edilen bulgulara göre BV’de bakteri çeşitliliği daha fazlaydı. *Megasphaera* (p=0,036), *BVAB2* (p=0,036), *Provetella spp.* (p=0,036) ve *Leptotrichia/Sneathia* (p=0,036) dahil olmak üzere dört bakterinin BV ile ilişkili olduğu bulundu.

Anahtar Kelimeler: vajinal mikrobiyota, bakteriyel vajinozis, *Gardnerella vaginalis*, Human papillomavirus

SUMMARY

Investigation of the relationship between vaginal microbiota and bacterial vaginosis and Human papilloma virus

Dr. Sedef Zeliha ÖNER

The vagina contains a large number of bacterial species with important health effects. Changes in the types and ratios of microbial species in the vagina can cause disease. Research was planned to investigate the relationship of vaginal microbiota and bacterial vaginosis and Human papillomavirus.

Between March 2017 and October 2017, 145 women who applied to Pamukkale University Training and Research Hospital Obstetrics and Gynecology Clinic were evaluated. 121 women were included in the study.

As a result of the gram staining assessment made, BV negative NS 0-3 % 39,7 (n=48) BV intermediate value NS 4-6 %21 (n=26) BV positive NS 7-10 %38,8 (n=47). The rate of BV was 38.8%. BV positivity was seen most at 3rd and 4th decades. There was a statistically significant difference between menstrual periods ($p=0.019$), last relationship time ($p=0,027$), and sexually protected and unprotected persons ($p=0.002$). There was no significant difference between the BV positive and negative groups in terms of the number of lactobacilli species by post hoc examination. Bacterial number average (*G. vaginalis*, *Megasphaera*, *BVAB2*, *Provetella spp.*, *M. mulieris*, *Leptotrichia / Sneathia*) investigated by post hoc examination in BV positive samples, BV was significantly higher than intermediate values and BV negative samples ($p=0.001$). *Liners* were the most frequently detected *Lactobacillus* species in all samples. *M.mulieris* was detected only in BV cases. *Megasphaera* ($p=0.036$), *BVAB2* ($p=0.036$), *Provetella spp.* ($p=0.036$) and *Leptotrichia / Sneathia* ($p=0.036$) were found to be associated with BV. Several groups of bacteria associated with BV were strongly associated with each other. *Provetella spp.* - *Megasphaera*, *Provetella spp.* - *Leptotrichia / Sneathia* and *Provetella spp.* - *BVAB2* was also significant at the same time ($p<0.001$).

G.vaginalis subtypes were studied in 50 randomly selected participants. 18 of 50 (%36) were BV negative, 20 (%40) were BV intermediate, and 12 (%24) were BV positive. The most common “clade” 4 strains were isolated. “clade” 1 % 25, “clade” 2 % 20,8, “clade” 3% 16,7 and “clade” 4 % 38,5 were found in all samples. There was no statistically significant difference between single and multiple “clade”in groups. There was no statistically significant difference between *G. vaginalis* claders in relation to BV negative, BV intermediate value and BV positive specimens.

The rate of HPV was %9.9. The highest number of HPV positives was seen in the third and fifth decades. HPV 16% 58.33 (n=7) was the most common HPV type detected. Other risk groups were %33.33 (n=4) and HPV 18 % 8.33 (n=1). In the risk factor analysis conducted by logistic regression analysis, marital status was found to be a significant risk factor among the groups (p=0.021 OR=4.48). The risk of HPV positivity among single persons was 4.48 times higher than those who were married. The mean number of lactobacilli and the number of bacteria (*G.vaginalis*, *Megasphaera*, *BVAB2*, *Provetella spp.*, *M.mulieris*, *Leptotrichia / Sneathia*) in HPV positive and negative groups were not significantly different from post hoc examinations. No statistically significant difference was found when the relationship between PCR and HPV positivity was evaluated. There was no statistically significant difference between HPV positivity and negativity and BV negative, BV intermediate value and BV positive groups.

Findings from this study show that BV has more bacterial diversity. *Megasphaera* (p=0.036), *BVAB2* (p=0.036), *Provetella spp.* (p=0.036) and *Leptotrichia / Sneathia* (p=0.036) were found to be associated with BV.

Key words: vaginal microbiota, bacterial vaginosis, *Gardnerella vaginalis*, Human papillomavirus

GİRİŞ

Büyük çoğunluğu bakteri türü olan muazzam sayıda mikroorganizmanın, kolonileşerek insan vücudunda çeşitli yerlerde mikrobiyotayı oluşturduğu bilinmektedir. Vajina, önemli insan mikrobiyota habitatlarından biri olarak, sağlık üzerinde önemli olan çok sayıdaki bakteri türlerini barındırır. Vajinadaki mikrobiyal türlerin tipleri ve göreceli oranlarındaki dramatik değişiklikler hastalığa neden olabilir (1).

Moleküler tabanlı teknikler kullanılarak, normal vajina florasına tipik olarak *Lactobacillus iners*, *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus jensenii* ve *Lactobacillus gasseri* gibi sınırlı sayıda *Lactobacillus* türünün egemen olduğu bulunmuştur (2).

Reprodüktif yaşlardaki kadınlarda en sık görülen vajinal rahatsızlık olduğu düşünülen bakteriyel vajinozis (BV), laktobasillerde büyük bir azalma ve yüksek konsantrasyonda diğer anaerobik ve fakültatif anaerobik bakterilerin normal vajen florasının yerini alması ile karakterizedir. BV'de bazı kadınlarda vajinal akıntı ve hoş olmayan vajinal koku bulunurken, aynı mikrobiyotaya sahip olanların bazıları ise asemptomatiktir (3).

Kadınlarda İnsan papillomavirüs'ünün (HPV) kalıcı saptanması displazi ve servikal malignite riskinin artması ile ilişkilidir, ancak HPV kalıcılığını etkileyen faktörler tam olarak anlaşılamamıştır (4). Vajinada yaşayan bakteri topluluklarının cinsel yolla bulaşan enfeksiyonlar (CYBE) da dahil olmak üzere patojenlere karşı önemli bir savunma hattı görevi gördüğüne dair güçlü kanıtlar bulunmaktadır (5). Bu organizmaların, epitel hücrelerine yapışmaları ve antimikrobiyal bileşikler üretmeleri nedeniyle diğer mikroorganizmalarla rekabet ederek vajinal mikrobiyotanın kontrolüne katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Bu bakterisidal bileşikler, vajinal pH, hidrojen peroksit, bakteriyosin benzeri maddeleri ve muhtemelen biyolojik koruyucu maddeleri azaltan organik asitleri içerir (6). Çalışma; vajinal mikrobiyotanın bakteriyel vajinozis ve Human papillomavirus ile ilişkisinin araştırılması amacıyla planlanmıştır.

GENEL BİLGİLER

MİKROBİYOTA

Mikrobiyota; insanlarla birlikte yaşayan özel türlerin tamamını, mikrobiyom ise insanlarla kommensal olarak yaşayan mikroorganizmaların taşıdıkları genleri ifade etmektedir (7). İnsan mikrobiyotası; başta bakteriler olmak üzere, virüsler, mantarlar ve birçok ökaryotik mikroorganizmalardan oluşmaktadır (8). Ayrıca insan vücudundaki bakteri genomu, insan genomundan 150 kat daha fazladır (9). Tıpkı genoma olan üstünlükleri gibi, insan vücudundaki mikroorganizma sayısı da insan hücre sayısından 10 kat fazladır (10). Yani insan, %10 insan ve %90 mikrobiyal hücrelerin birleşiminden oluşan bir holobiont (süperorganizma)'tur (11). Artan kanıtlar, farklı insan vücudundaki habitatlarda mikrobiyotanın bileşiminin ve işlevinin insan gelişiminde, fizyolojide, bağışıklıkta ve beslenmede hayati bir rol oynadığını ortaya koymaktadır (12).

Sağlık, hastalık ve insan mikrobiyotası arasındaki bağlantı hızlı değişen ve tartışmalı bir araştırma alanıdır. Bireyler arasındaki mikrobiyotik kompozisyon varyasyonunun değerlendirilmesi, birçok vücut sistemini etkileyen çeşitli hastalıkların altında yatan patofizyolojiyi anlamamıza katkı sağlamaktadır (13).

DİSBIYOZİS VE ÖBİYOZİS

Sağlıklı mikrobiyotanın ne olduğu henüz tartışma konusu olmakla beraber, sağlıklı kontrollerle yapılan çalışmalarda hastalık durumunda oluşan "sağlıksız" mikrobiyotaya "disbiyozis" terminolojisi kullanılmaya başlanmıştır. Sağlıklı mikrobiyotaya ise "öbiyozis" denilmektedir (10,14).

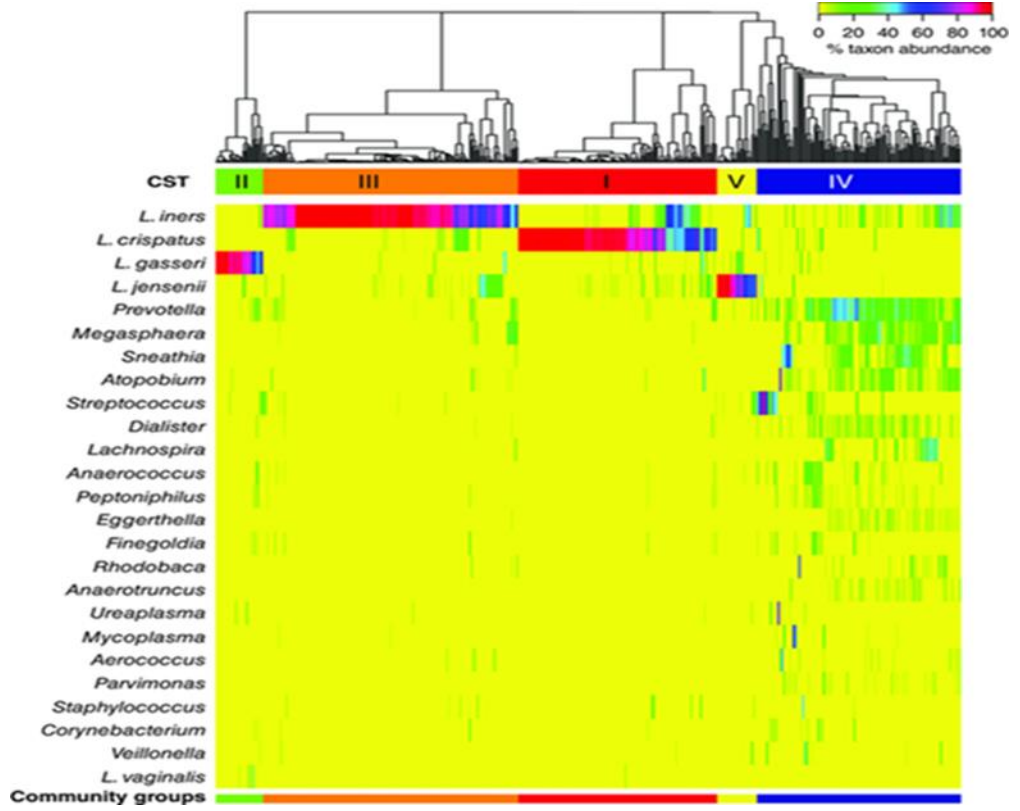
VAJİNAL MİKROBİYOTA

Mikrobiyotanın, insan vücudundaki sağlık ile hastalık arasındaki dengede önemli bir rol oynadığı kabul edilmektedir. DNA dizileme tekniklerindeki son gelişmeler, bağırsak mikrobiyotasında artan bir çeşitliliğin genellikle hastalığa daha az duyarlılıkla bağlantılı olduğunu ortaya koysa da, tersinin vajinal mikrobiyota için

geçerli olduğu görülmektedir (15,16). Vajina önemli insan mikrobiyotaya habitatlarından biri olarak, sağlık üzerinde önemli etkileri olduğu bilinen çok sayıdaki bakteri türlerini barındırır (17). İnsan konakçısı ve vajinal mikrobiyotaya arasındaki etkileşim oldukça dinamiktir. Bir kadının yaşamı boyunca vajina fizyolojisi ve mikrobiyotası ergenlik, menopoz ve gebelik gibi geçiş dönemleri tarafından şekillendirilirken, kültür bağımsız çalışmalarla gözlemlenen, mikrobiyal bileşimdeki günlük dalgalanmaların günlük yaşam aktivitelerinin sonucu olması muhtemeldir (18). Bu periyotlar boyunca, vajinal mikrobiyotaya ev sahibi üreme fizyolojisini etkileyebilir, ancak konak fizyolojisinden de etkilenir (19).

Üreme çağındaki kadınlar laktobasillerin egemen olduğu bir vajinal mikrobiyotaya (VMB) sahiptir (20). Hidrojen peroksit ve laktik asit üreten *Lactobacillus* spp. gibi bakterilerin çoğunun sadece pasif veya geçici kolonize ediciler olmadığı, vajinanın spesifik ortama adaptasyonunu sağladığı görülmektedir (21-23). Bu yerleşik türler etkili bir şekilde ekolojik bir ortam oluştururlar. Topluluk içinde benzer şartlara sahip ve benzer bir role sahip türlerden oluşan bir grup ve bu popülasyonların yüksek sayılarının muhafaza edilmesi sağlıklı koşulların bir işaretidir (24). Vajinadaki mikrobiyal türlerin tipleri ve göreceli oranlarındaki dramatik değişiklikler hastalığa neden olabilir (25).

Üreme çağındaki kadınların vajinal bakteri türünün kompozisyonunu ve bolluğunu inceleyen yeni yüksek verimli 16S rRNA gen dizileme çalışmaları, toplumsal tipler (community state type) (CST) olarak adlandırılan beş büyük vajinal mikrobiyotaya tipi bulunduğunu göstermiştir (15, 24, 26). Bu CST'lerden *Lactobacillus crispatus* (CST-I), *L.gasseri* (CST-II) , *L.iners* (CST-III) ve *L.jensenii* (CST-V) önemli miktarda *Lactobacillus* içermektedir, ancak CST-IV'e *Lactobacillus* hakim değildir. CST-IV *Lactobacillus*, *Gardnerella*, *Atopobium*, *Mobiluncus*, *Prevotella* cinsleri ve *Clostridiales* sırasındaki diğer taksonlar da dahil olmak üzere anaerobların ve fakültatif anaerobların bir polimikrobiyal karışımından oluşmaktadır (15, 25-27) (Şekil 1).



Şekil 1. Vajinal mikrobiyota toplumsal tiplerin ısı haritası (15)

Laktobasillerin Özellikleri

Östrojen etkisi altında glikojen insan vajinasında birikir. Laktobasillerde, glikojeni maltoz, maltotrioz ve alfa dekstrinler haline getiren enzim olan α -amilaz da bulunur. Laktobasiller, bu enzimi glikojen parçalanma ürünlerinden laktik asit üretmek için kullanırlar. Vajinanın pH 3.0-4.5'e asitleştirilmesi, diğer bakterilerin çoğalmasını inhibe eder (28-30). Laktobasiller vajinal epitel hücrelerinin yüzeyine bağlanır ve diğer mikroorganizmalarla rekabet ederek epitele tutunur ve mikroorganizmaların bulaşmasını engeller. Aynı zamanda, diğer bakterilerin epitel hücre zarı ile birleşmesini engelleyen çözünür bileşenleri serbest bırakırlar (6).

Diğer bakterileri öldüren bakteriosinler olarak adlandırılan bileşiklerin laktobasiller tarafından üretilmesi, aynı zamanda laktobasillerin baskınlığına da katkıda bulunur (31,32). Böylece, bir kadının vajinasındaki laktobasiller, düşük vasatta bulunabilen diğer bakterilerin çoğalmasını inhibe edebilir düzeylerine erişirken, dış kaynaktan vajinaya biriken bakterilerin alınmasını da önler (33).

Mikrobiyal antijenlere karşı doğal immün yanıtın düzenlenmesinde, vajinayı asidize eden, diğer mikroorganizmaların büyümesini önleyen D- ve L-laktik asit izomerlerinin üretilmesinde laktobasiller görevlidir. Histon deaktilazları inhibe eder ve gen transkripsiyonunu ve DNA tamirini artırır. Otofajın indüklenmesine yol açan siklik AMP'yi inhibe eder ve hücre içi mikroorganizmaları öldürür, oksidatif strese ve inflamasyonun indüklenmesine karşı korur (34). Böylece, vajinada laktobasillerin bolluğu enfeksiyona direnci artırır. Gebe ve gebe olmayan kadınların sağlığına katkıda bulunur (34).

VAJİNAL FLORA

Vajina ekosistem, hassas bir denge içinde yaşayan değişik bileşenlerden oluşur. Bu ekosistemi; asitler, karbonhidratlar ve proteinler gibi metabolik ürünler ile ölen bakteri hücrelerinin bozulması ile ortaya çıkan nükleik asitler, yağ asitleri ve şekerler gibi hücrel atıkları salgılayan birçok bakteri çeşidi oluşturur (35).

Bu mikroflora diğer organizmaların yanı sıra gram pozitif ve gram negatif aerobik fakültatif ve zorunlu anaerob bakterilerden meydana gelir. Mevcut sayısız bakteri arasında patojen olan ve olmayan bakteriler bulunmaktadır (Tablo1). Sağlıklı bir vajina ekosisteminde mikroflorada baskın olanlar *Laktobasillus* türleridir. Ekosistem tahrip olduğunda veya dengesi bozulduğunda, patojen bakteriler baskın duruma geçer ve bireyin sağlığı açısından olası bir tehdit haline gelir (35).

Yaşa bağlı olarak vajinal flora dört dönemde incelenmektedir: Neonatal dönem (yenidoğan dönemi), Prepubertal dönem (ergenlik öncesi dönem), Postpubertal dönem (ergenlik sonrası dönem), Postmenopozal dönem (menopoz sonrası dönem) (36).

Tablo1. Sağlıklı vajinal ekosistemden sıklıkla izole edilen bakteriler (35)

Zorunlu aerob bakteriler	
Gram-pozitif	Gram-negatif
<i>Lactobacillus crispatus</i> <i>Lactobacillus casei</i> <i>Lactobacillus gasseria</i> <i>Lactobacillus iners</i> <i>Gruplanmayan Streptokoklar</i> <i>Streptococcus viridans</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Eschericia coli</i> <i>Enterobacter agglomerans</i> <i>Enterobacter aerogenes</i> <i>Enterobacter cloacae</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Morganella morganii</i> <i>Proteus mirabilis</i> <i>Proteus vulgaris</i>
Zorunlu anaerob bakteriler	
Gram-pozitif	Gram-negatif
<i>Eubacterium spp.</i> <i>Peptococcus niger</i> <i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	<i>Fusobacterium necrophorum</i> <i>Fusobacterium nucleatum</i> <i>Prevotella bivia</i> <i>Prevotella melaninogenica</i>

Anne hormonlarının etkisinde doğumdan hemen sonra, asidik ortamda bebeğin vajinal florasında aerob laktobasiller bulunur. Sonrasında vajinal florada laktobasiller puberteye kadar bulunmaz ve vajen flora pH'sı ise nötraldir. Bu dönemde Gr (+) ve Gr (-) koklarla, Gr (-) koliform basillerden oluşan karışık bir flora bulunur. Menopozdan sonraki vajina florasıda buna benzerlik gösterir. Vajinal flora puberte ile değişir ve vajina epitelinde kornifikasyon ile yassılaşıma meydana gelir. Bu dönemde florada bulunan bakteriler; *Lactobacillus* (florada yoğun miktarda), *Streptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Mycoplasma*, *Bacteroides*, *Clostridium*, *Listeria* cinsleri ile *Gardnerella vaginalis*'dir. Menopozdan sonra laktobasiller tekrar ortamdaki kaybolurlar ve yine karışık bir bakteri florası oluşur. Laktobasil cinsine ait bakterilerin insan vajinasının normal florasında çoğunlukta görülen mikroorganizmalar olduğu bildirilmiştir (36).

Üreme çağında sağlıklı vajen florası 3.8-4.2 aralığında asidik pH'a sahiptir. Bu özelliği sağlayan temel etken östrojendir. Östrojen vajen epitelinin proliferasyonu ve epitel hücrelerinde glikojen depolanmasını sağlar. Glikojenin enzimatik ve laktobasillerle yıkımı ile ortaya çıkan laktik asit, vajen pH'ının asidik kalmasını temin eder. Asidik ortam başta laktobasiller olmak üzere vajen florasının gelişimini uyarır (37,38).

Puberte öncesi ve postmenopozal dönemde östrojen azalması nedeniyle vajina epiteli incilir ve pH 6-8 seviyesine yükselir. Postmenopozal dönemde vajen dokusunda oluşan atrofi vajeni travma ve enfeksiyonlara hassas hale getirmekte, floradaki laktobasiller yerini patojenik kokların başını çektiği mikst flora bırakmaktadır (20,39,40).

BAKTERİYEL VAJİNOZİS

Bakteriyel vajinozisin nedeni olarak bilinen tek bir etiyolojik ajan yoktur. BV vajinal mikrobiyotada ekolojik bir bozukluk olarak düşünülür. Normal *Lactobacillus* baskın mikrobiyotanın tükenmesi ile birlikte, daha yüksek bakteri çeşitliliği ve komensal anaerobik bakterilerin aşırı miktarda büyümesi (normalden 100-1000 kat fazla) görülmektedir (41).

Geleneksel kültürde, *G.vaginalis*, *Prevotella spp.*, *Porphyromonas spp.*, *Bacteroides spp.*, *Peptostreptococcus spp.*, *Mobiluncus spp.* ve *Mycoplasma hominis*'in BV ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (42). Moleküler metodların kullanımı ile, *Atopobium vaginae*, *Megasphaera spp.*, *Leptotrichia spp.*, *Dialister spp.* gibi çeşitli yeni bakteriler ve *Clostridiales* cinsine ait üç bakteriyel vajinoza bağlı bakteri BVAB1, BVAB2, BVAB3'in BV ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (25,43,44).

BV, dünyadaki üreme çağındaki kadınlarda en yaygın alt genital bölge enfeksiyonudur (45). Her yıl milyonlarca kadını etkilemektedir (46).

Pelvik inflamatuvar hastalık, postpartum ve postabortal endometrit ve *Neisseria gonorrhoeae*, *Trichomonas vaginalis*, *Chlamydia trachomatis*, *Candida* ve

hatta HPV, Herpes simpleks virüs -2 ve HIV-1 gibi çeşitli patojenlerle enfeksiyona duyarlılığın artması gibi çeşitli olumsuz sağlık sonuçlarıyla güçlü bir şekilde ilişkilidir (47-52).

Gebe kadınlarda bakteriyel vajinozisin preterm doğum ve koryoamniyoniti de içeren perinatal komplikasyonlar için bir risk faktörü olduğu öne sürülmüştür (53,54). Bu komplikasyonlar dünya çapında yenidoğan morbiditesi ve mortalitesi ile yakından ilişkilidir.

BV'nin infertiliteli kadınlarda doğurgan kadınlarda olduğundan üç kat daha yaygın olduğu bildirilmiştir ve in vitro fertilizasyon-embriyo transferi sonrasında preklitik gebelik kaybı riskinin iki kat artması ile ilişkilendirilmiştir (55).

Anormal vajinal akıntı BV'nin tek semptomu olabilir ve etkilenen birçok kadın asemptomatiktir (56). Her beş kadından biri yılda bir kez BV olmaktadır. Bununla beraber, bu kadınların sadece yarısı semptomatiktir (57).

Bakteriyel vajinozisin, laktobasilin baskın olmadığı en yaygın VMB türü olduğu düşünülmektedir (20,25). BV olarak bilinen polimikrobiyal koşul, *Lactobacillus* spp. kaybı, anaerobların ve fakültatif anaerobların varlığı ve bazen akıntı, koku ve tahriş gibi klinik semptomlar ile tanımlandığı için CST-IV'e kompozisyonel olarak benzerdir (18).

Asemptomatik olduğunda, bu mikrobiyota tipik bir BV'nin asemptomatik halini mi yoksa sağlıklı bir durumumu yansıtıp yansıtmadığı hala tartışılmaktadır. Bu mikrobiyotada laktobasil baskın olmasa da, vajinal nişin koruyucu işlevini, yani laktik asit üretimiyle düşük vajinal pH'ı koruyabilmektedir (26). Bununla birlikte, bu tür çeşitli mikrobiyotaya sahip kadınlar, çeşitli vajina ve idrar yolu enfeksiyonlarına, *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, HIV ve Herpes simpleks virüs-2 gibi cinsel yolla bulaşan enfeksiyon riskinde artışa, erken gebelik kaybı ve preterm oranlarında artış riskine sahip olabilirler. Bu nedenle, bu tür mikrobiyotaya sahip kadınların yakından ve düzenli olarak izlenmesi gerekmektedir (58,59).

Strese yanıt olarak kadınlar arasındaki farklılıklar, vajinal mikrobiyotadaki stresle ilişkili değişiklikler, vajinadaki diğer laktik asit üreten bakterilerin varlığı ve bağışıklık genlerindeki ırksal genetik farklılıklar, BV tanısı ile uyumlu bir vajinal mikrobiyotanın neden her zaman olumsuz sonuçlar ile ilişkili olmadığını açıklayabilir (60,61).

Gardnerella vaginalis

BV'nin en belirgin özelliği, vajinal epitel yüzeyinde, diğer türlerin yapışması için bir iskele haline gelen *G.vaginalis* suşları tarafından başlatıldığı düşünülen, yoğun bir polimikrobiyal biyofilm varlığıdır (62,63). Bu türün BV'nin gelişimine gerçekten dahil olup olmadığı veya vajinal çevredeki değişikliklere iyi adapte olmuş fırsatçı organizmalar olup olmadıkları hala belirsizdir (64).

Vajinal mukoza, konak epitel çevresini HIV dahil olmak üzere zararlı patojenlerden ayırmak için fiziksel bir bariyer olarak önemli rol oynamaktadır (65). Vajinal mikroplar mukozanın bütünlüğünü etkileyebilir (66). BV ile ilişkili *G.vaginalis* türleri, salgısal immünoglobulin A (sIgA)'yı ve sialidazları salgılayarak koruyucu mukozal sialoglikoproteinleri hidrolize ederler (67). *G.vaginalis*, konakçı yanıtından kaçınmak için serbestleştirilen sialik asit kalıntılarını tüketebilir ve etkisiz hale getirebilir (68). Buna ek olarak, *G. vaginalis*, CD59 ile birlikte veya CD59 olmadan vajinal epitelyumda gözenekler oluşturarak BV semptomolojisine katkıda bulunabilecek bir kolesterol bağımlı sitolizin olan vajinolizin üretmektedir (69,70).

G.vaginalis'in rolü, sağlıklı ve BV tipi vajinal mikroflorada bulunması nedeniyle tartışmalıdır. *G.vaginalis*, hemen hemen tüm BV'li kadınların vajinal örneklerinden elde edilir (71,72).

G.vaginalis çeşitli klinik koşullarla ilişkili olmasına rağmen, sağlıklı bireylerin vajinal örneklerinde BV olgularından daha düşük sayıda da olsa bulunmaktadır (72).

Genotiplendirme şemalarına göre *G.vaginalis* dört ayrı dala ayrılmıştır (1-4) ve dört ilgili alt grup (A-D) bulunmuştur (73,74). *G.vaginalis* alt gruplarının dağılımının

vajinal sağlık ya da hastalığın evrensel olarak geçerli bir göstergesi olup olmadığı henüz net değildir. Her bir alt grubun virulans potansiyelinin analizi, *G.vaginalis* içindeki farklı patojenik veya komensal alt grupları ortaya çıkaracaktır (75).

BV İÇİN RİSK FAKTÖRLERİ

BV için bilinen risk faktörleri etnik köken, düşük sosyoekonomik durum, vajinal duş jeliyle temizlik, sigara kullanımı, intrauterin kontraseptif cihaz kullanımı, yeni / çoklu seks ortakları, korunmasız cinsel ilişki ve homoseksüel ilişkidir (76,77).

Etnik Köken

Azınlık populasyonlarında daha yüksek BV oranı rapor edilmiş olsa da, bu bulgunun genetik, sosyoekonomik, davranışsal veya diğer farklılıkları yansıtır yansıtmadığı açık değildir (77,78). Amerika Birleşik Devletlerindeki 2001 ile 2004 yılları arasında yapılan bir çalışmada, kendi kendine toplanan srntlere dayanan BV oranı, Afrikalı-Amerikalı kadınlar için % 51, Meksikalı-Amerikalı kadınlar için % 32 ve Avrupa kökenli kadınlar için % 23 bulunmuştur (77).

Sigara Kullanımı

Sigara, inflamatuvar sitokinleri azaltarak ve nötrofillerin ve makrofajların fonksiyonelliğini bozarak doğal bağışıklığı etkiler. Ağız boşluğunda ve bağırsakta, sigara, mikrobiyolojik değişime neden olur (79). Buna ek olarak sigara, serviko-vajinal bağışıklık üzerine çeşitli etkilere sahiptir ve servikovajinal mikrobiyotada laktobasil prevelansının düşüklüğü ile bağlantılıdır (80).

Vajinal Hijyen Uygulamaları

Bazı vajinal hijyen ürünlerinin kullanımı üzerine yapılan araştırmalar, kullanımlarıyla ilgili potansiyel sağlık risklerine işaret etmektedir. Araştırmalar vajinal jel ile temizlik ve vajinal duşun; cinsel yolla bulaşan enfeksiyonlara (CYBE), pelvik inflamatuvar hastalıklara, bakteriyel vajinozise yol açabileceğini göstermektedir (81).

Cinsel Aktivite

Cinsel aktivite, BV için bir risk faktörüdür ve çoğu uzman tarafından, oral seks de dahil olmak üzere, herhangi bir cinsel ilişki yaşamayan kadınlarda BV'nin görülmediğine inanılmaktadır (82,83). Epidemiyolojik çalışmalar, BV patojenlerinin cinsel yolla bulaşmış olduğunu göstermektedir (84). Gözlemsel bir çalışmanın sistematik bir derlemesinde ve meta-analizinde, prezervatif kullanımı azalmış risk ile ilişkili iken, yeni ve çok sayıda erkek ve kadın ortakla cinsel ilişki artmış BV riski ile ilişkilendirilmiştir (85). Buna ek olarak, birçok BV ile ilişkili tür erkek penis deri, semen, üretra ve idrar örneklerinden izole edilmiştir (84,86).

Cinsel Yolla Bulaşan Enfeksiyonlar

Diğer cinsel yolla bulaşan enfeksiyonların varlığı, BV prevalansının artması ile ilişkili görünmektedir. BV enfeksiyonu ve herpes simpleks virüsü-2 enfeksiyonu arasındaki ilişkiyi değerlendiren çalışmaların sistematik bir derlemesi ve meta-analizinde, Herpes simpleks virüs-2 ile enfekte olan kadınların BV enfeksiyon riski, Herpes simpleks virüs 2 ile enfekte olmamış kadınlara kıyasla % 55 daha yüksektir (87). Benzer şekilde, beş yıllık bir prospektif kohort çalışmada, bakteriyel vajinozisin, HIV ile enfekte olmuş kadınlar arasında ve özellikle bağışıklık sistemi baskılanmış olanlar arasında daha yaygın ve kalıcı olduğu bulunmuştur (88). BV, HIV'in edinimi için bir risk faktörü olabilir (89).

BV İÇİN DOĞAL BAĞIŞIKLIK MEKANİZMALARI

AMP'ler, doğuştan gelen bağışıklık sisteminin düşük molekül ağırlıklı bileşenleri olup, çok çeşitli mikroorganizmalara karşı güçlü etki gösterirler. Kadınların alt genital bölgelerinde çok sayıda AMP tespit edilmiştir (90). Bu peptidlerin değişen seviyeleri, BV'nin teşhisi ile tutarlı bir vajinal mikrobiyotaya sahip olma olasılığının artması ile ilişkilendirilmiştir. Demir, çinko ve manganez hem mikroplar ile konakçuları için temel mikro besinler, hem de bireysel konsantrasyonlarındaki değişiklikler, spesifik bakterilerin çoğalma oranlarını etkiler (91). Örneğin, *G.vaginalis* çoğalması ekzojen demire bağımlı iken laktobasiller büyüme için manganez gerektirir (92,93). Demir bağlayıcı bir protein olan Laktoferrin, BV'li kadınların vajinal akıntısında yükselir (94). BV olan ama

mikrobiyotası tipik olmayan kadınlarda, demir gerektiren bakterilerin proliferasyonunu sınırlamak için geliştirilmiş laktoferrin üretimi konakçıya cevap verebilir. Nötrofil jelatinazla ilişkili lipokalin (NGAL) demirin düzenlenmesinde rol oynayan bir başka AMP'dir. Siderofor olarak adlandırılan bakteriyel demir bağlayıcı molekülleri bağlar ve böylece bakteri üremesini önler (95).

Laktoferrin'in aksine, BV'li kadınlarda NGAL konsantrasyonları azalmıştır (96). Dolayısıyla, hâlâ tanımlanamayan bir mekanizma tarafından konakçı NGAL üretiminde bir azalma, BV organizmalarının geçici veya uzun vadeli çoğalmasını lehine olabilir. Konağın vajinal demir konsantrasyonunu modüle edebilme kabiliyeti, BV geçişlerinde laktobasillerin sıklığını ve kapsamını belirleyebilir. Vajinada adet dönemlerinde, enfeksiyonda, cinsel ilişki veya vajinal ürünlerden kaynaklanan eritrositlerin ortaya çıkmasına neden olan herhangi bir durum demir seviyelerinin yükselmesine neden olur ve ortamda düşük seviyelerde bulunan BV ile ilişkili bakterilerin geçici artışı beklenir (97).

BV Tanısında Kullanılan Yöntemler

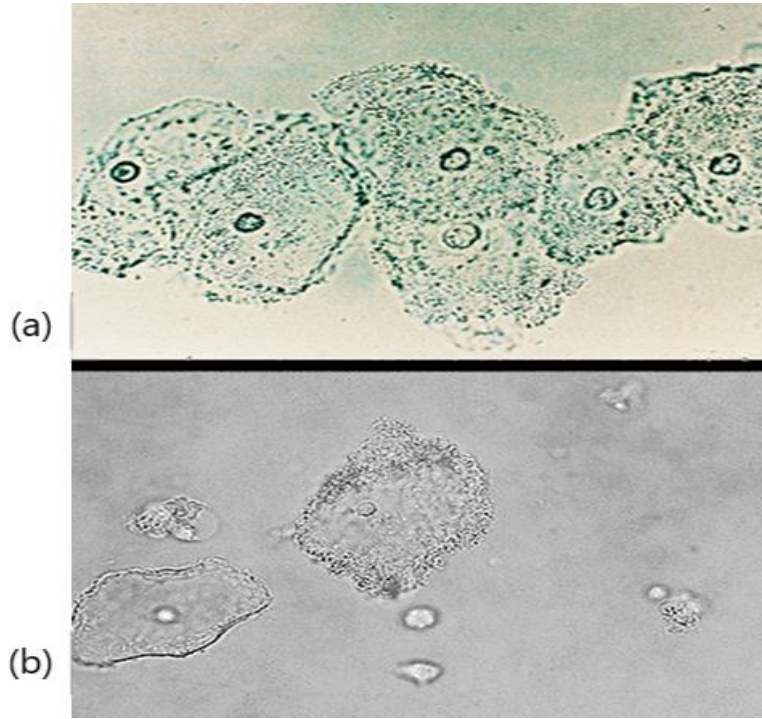
Amsel Kriterleri

BV yaygın olarak Amsel'in kriterleri kullanılarak klinik olarak teşhis edilir. Bunlar homojen, beyaz bir vajinal akıntı da dahil olmak üzere dört özellikten oluşur: % 10 potasyum hidroksit ilavesi sonrasında vajinal akıntıda balık kokusu; vajinal akıntının pH'sı 4,5'ten yüksek; ve ipucu hücrelerinin (yapışık bakterilerle örtülü skuamoz epitel hücreleri) bulunması. BV'yi teşhis etmek için kriterlerden en az üçünün mevcut olması gerekir (98).

İpucu hücrelerinin varlığı en özgül kriterdir (99). İpucu hücresi yapışkan bakterilerle kaplanan ve bu nedenle de sınırları belirsiz görünen vajen yassı epitelyum hücreleridir. Bu hücrelerin yüzeyinden izole edilen esas mikroorganizma *G. vaginalis*'tir. Bunun yanında daha nadir de olsa *Mobiluncus* ve *Bacteroides* türleri de ipucu hücre oluşumuna neden olabilirler. İpucu hücrelerinden sorumlu ajan *Mobiluncus*'lar olduğunda hücre yüzeyinde saptanan mikroorganizmalar gram negatif eğri çomaklar şeklinde görülmektedir.

BV için tanısal anlamlılık açısından görülen bütün epitelyum hücrelerinin %20'sinin ipucu hücre olması gerekir. Mikroskopik incelemede on ayrı küçük büyütme alanında ipucu hücrelerinin saptanması pozitif olarak değerlendirilir (99,100).

Mikroskopi incelemelerinde tecrübeli uzman tarafından teşhis edilen ipucu hücrelerinin varlığı BV'nin en güvenilir göstergesidir (101). BV'nin tanısında Amsel kriterinin duyarlılığı % 90'ın üzerindedir ve özgüllük % 77'dir (102).



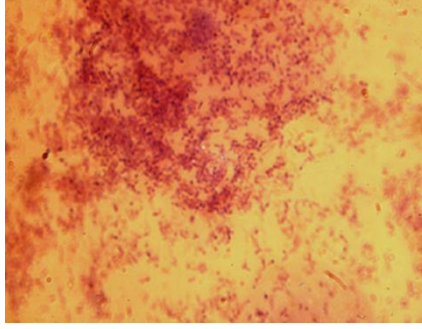
Şekil 2a.Karakteristik ipucu hücreleri. Epitel hücrelerinin kenarlarını örtmek için bakteriler tarafından çok yoğun kaplanmıştır (103).

Şekil 2b. Ortada vajinal epitel hücresi, kokobasillerle ile örtülü gölgeli sınırlara sahiptir. Soldaki normal görünen epitel hücresi daha keskin sınırlara sahiptir (104).

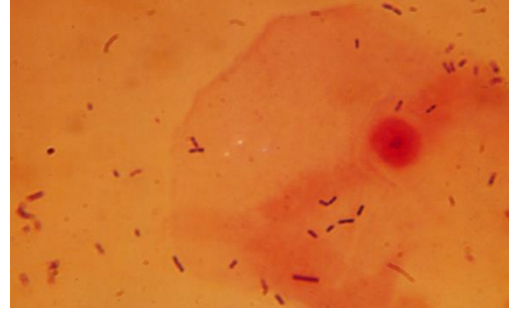
Gram Boyama

Vajinal akıntının gram boyaması, BV tanısında altın standarttır (105). Ancak Amsel kriterlerinden daha fazla zaman, kaynak ve uzmanlık gerektirdiğinden

çoğunlukla araştırma çalışmalarında uygulanmaktadır (106,107). Gram boyalı vaginal akıntı, Nugent kriterleri veya Hay / Ison kriterleri kullanılarak değerlendirilir (108).



Şekil 3a. BV vaginal akıntı



Şekil 3b. Normal vaginal flora

Puanlama	Laktobasil morfolojileri	<i>Gardnerella</i> ve <i>Bacteroides</i> morfolojileri	Kıvrık gram değişken çomaklar
0	4+	0	0
1	3+	1+	1+ ya da 2+
2	2+	2+	3+ ya da 4+
3	1+	3+	
4	0	4+	

Tablo 2. Nugent'in bakteriyel vajinoz tanısı için puanlama sistemi (105).

Nugent ve arkadaşlarının skorlama sistemde 0-10 arasında değişen bir skorlama için üç bakteriyel morfoloj inceleştir. Laktobasilleri büyük gram pozitif çomaklar, *Gardnerella* ve *Bacteroides*'i küçük gram negatif veya gram değişken çomaklar ve *Mobiluncus*'u kıvrık gram negatif veya gram değişken çomaklar şeklinde ayırmışlardır (105) (Tablo 2). Toplam puan 7-10 arasında ise BV tanısı konulabilir. 4-6 arasında puanı olan yaymalar şüpheli olarak değerlendirilerek daha sonra testin tekrar edilmesi önerilirken 0-3 arası puan alan yaymalar BV açısından negatif kabul edilir (109,110). Bu skorlama sisteminin bir avantajı da vaginal florayı

normal (Laktobasil dominant), ara durum (mikst flora) ve BV olarak kategorize etmesidir.

Sitoloji

Papanicolaou smear BV tanısında güvenilir değildir (duyarlılık % 49, özgüllük % 93) Sıvı temelli servikal sitoloji tarama yöntemlerinin duyarlılığı ve özgüllüğü hakkında hiçbir bilgi mevcut değildir. Eğer bir sitoloji bulgusu BV'yi düşündürüyorsa, hastaya semptomlar sorulmalı ve semptomatik ise, BV için standart tanı testine tabi tutulmalı ve gerekirse tedavi edilmelidir (111).

Kültür

Vajinal kültürler geçmişte birincil laboratuvar testi olarak kullanılmıştır, ancak günümüzde bunun değerliliği çok azdır. *G.vaginalis* de dahil olmak üzere BV ile klasik olarak ilişkili olan organizmalar laboratuvar ortamında, klinik olarak BV bulgusu olan kadınların % 83'ünden % 94'üne kadar üreyebilir, ancak aynı zamanda klinik özellik taşımayan asemptomatik kadınların % 36-55'inde de üreyebilir (112). *Mobiluncus* türleri gibi, BV ile kuvvetli bir şekilde ilişkili olan diğer anaerobik bakterilerin, kültür yoluyla izolasyonu çok zordur (113). Aynı zamanda, normal vajinal laktobasiller önemli oranda azalır ya da yok olur. Sonuç olarak, klinik tanı, vajinal numunedeki bakteri morfoloilerinin oranlarını tanımlayan yöntemlere dayanmalıdır (114).

Ticari Testler

Amsel kriterlerinin mükemmel performansı göz önüne alındığında, BV'nin teşhisi için ticari testler yaygın olarak kullanılmaz, ancak mikroskopi mevcut olmadığında yararlı olabilir. Affirm VP III Testi ve OSOM BV Blue Sistemi ticari testlerdir.

Araştırma Testleri

Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

Flüoresan in situ hibridizasyon (FISH) testi (115).

Human Papillomavirüs (HPV)

Papilloma virüsleri Papillomaviridae ailesinin bir parçasıdır (116). Her yerde bulunan bu virüsler, insanlar da dahil olmak üzere sayısız hayvan türünde de tespit edilir ve genellikle kendi konakçıları için spesifiktir (117).

Papilomavirüslerin sınıflandırılması, ana kapsid L1 açık okuma çerçevesinin (ORF) nükleotid dizisinin bir karşılaştırmasına dayanmaktadır (118). Bir genotip, % 90'a yakın dizi homolojisi ile tanımlanır. Aynı genotipteki alt tipler veya varyantlar, sırasıyla % 90 ve % 98 veya % 98'in üstünde bir nükleotid özdeşliğine karşılık gelir. Son zamanlarda E1 ve E2 ORF'lerinin nükleotid dizisine dayanan alternatif bir sınıflandırma sistemi önerilmiştir (119). Bunun dışında, HPV'ler bir taraftan doku tropizmlerine (kutanöz veya mukozal) ve diğer taraftan onkogenik potansiyellerine göre sınıflandırılır (120).

İnsan papilloma virüsü tipleri klinik olarak da üç kategoriye ayrılmaktadır. Bunlar; kanser açısından düşük riskli HPV'ler (6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 55 ve 62), olası yüksek riskli HPV'ler (26,53 ve 66) ve yüksek riskli HPV'ler (16 başta olmak üzere 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 56, 58, 59, 68, 73 ve 82) olarak gruplandırılmaktadırlar (121).

HPV genotiplerinin genetik heterojenliği yüksek düzeyde tanımlanmıştır (122). Şimdiye kadar, 200'den fazla HPV genotipi tespit edilmiştir; 112 (HPV1'den HPV112'ye) HPV tipi genomların klonlanması ve dizilendirilmesinden sonra karakterize edilmiştir (119). Papilomavirüslerin filogenezi, bu virüslerin rekombinasyon olayları da dahil olmak üzere çoklu mekanizmalarla evrimleştiğini, ancak sadece virüs ile karşılık gelen konakçı arasında rekombinasyon olmadığını ortaya koymaktadır (123). Papilloma virüsleri 16 ayrı cins olarak sınıflandırılır ve çoğu HPV alfa veya beta cinsine aittir. Alfa cinsi, genital / mukozal HPV'leri ve ciltte siğillere neden olan HPV2, HPV3 ve HPV10 gibi bazı kutanöz genotipleri içerir. Beta türü esasen belirgin olmayan cilt enfeksiyonlarıyla ilişkilidir, ancak beta-HPV, bağışıklığı baskılanmış bireylerde lezyonlara neden olabilir. Kalan HPV'ler üç cins (gama, mu ve nu) olarak sınıflandırılır ve kutanöz papillomaları veya siğilleri indükler (118).

HPV'nin Genetik Yapısı

HPV virionları zarfsız, dsDNA içeren, ikosahedral kapsidlerden oluşur. HPV viral genomları yaklaşık 8 kb'lik daireseldir ve konakçı hücrelerin çekirdeği içinde kopyalanır. Kapsidlerde, viral genomlar hücresel histonlarla bağlantılı olup, kromatin benzeri yapılar oluşturur (124). Tüm HPV türlerinden viral genomlar, ortalama 8 okuma çerçevesi (ORF) barındırır ve bu ORF'ler tek bir DNA zincirinden transkribe edilen polisistronik mRNA'lardan eksprese edilir (125). Sekiz ORF, erken ve geç genlere ve yukarı akış düzenleyici bölge (URR) olarak adlandırılan kodlamayan bir bölgeye bölünebilir (126). Erken (E) ORF'ler E1, E2, E4, E5, E6 ve E7 proteinlerini kodlamaktadır (125,126). E1 ve E2 proteinlerinin viral çoğalmayı ve diğer erken viral genlerin eşgüdümlü ekspresyonunu düzenlediği gösterilmiştir (127). Eklenmiş E1 ve E4 proteini, hücresel keratin ağlarıyla etkileşime girerken, çöküşe neden olan olgun virionların kornişlenmiş zarftan kaçmasına izin verirken, viral genomların çoğalmasını G2-M geçişini inhibe ederek de etkileyebilir (128). Yüksek riskli HPV'ler tarafından kodlanan E5, E6 ve E7 proteinleri, hücrelerin büyümesini dönüştürmek ve uyarmak için onkogeniktir (129). Geç (L) ORF'ler L1 ve L2 proteinlerini kodlar. L1, ana kapsid proteini olarak görev yaparken L2, küçük kapsid proteini olarak görev yapmaktadır (126).

HPV Yaşam Döngüsü

HPV'ler epitel enfekte eder ve tüm yaşam döngüsü ayrılmaz bir şekilde keratinosit farklılaşmasıyla bağlantılıdır (130). Hücreye girdikten sonra, papillomavirüsler uzun süreli lezyonlar başlatabilir. Bununla birlikte, kalıcı bir enfeksiyon oluşturabilmek için bir HPV'nin birkaç "engel" aşması gerekir.

Birincisi, katmanlı epitelin farklılaşması, sürekli hücresel dönüşüme ve terminal olarak farklılaşmış keratinositlerin skuamasyonuna bağlı olduğu için, dokuda papillomavirüsün korunması bazal epitelyal hücrelerin enfeksiyonunu gerektirir. Bunun, bu hücrelerin mikro yaralanmaları sırasında virüse doğrudan maruz kalması durumunda gerçekleştiği düşünülmektedir (131). Kendi kendini yenileme kapasitesine sahip epitel kök hücrelerinin enfeksiyonu, viral genomun uzun süreli korunmasını sağlayabilir. Tam giriş reseptörü henüz kesin olarak

belirlenmemiş olsa da, bu süreçte heparin sülfatın rolü tanımlanmıştır (132). Bazal epitel tabakasında, viral genom başlangıçta nispeten düşük bir kopya sayısı ile kopyalanır. HPV E1 ve E2 proteinleri bu hücrelerde eksprese edilir ve hücre polimerazların epizomal papillomavirüs genomlarını çoğaltmasına izin vererek viral çoğalma kaynaklarına bağlanır (133).

İkincisi, virüs farklılaşan hücrelerin çoğalma potansiyelinin kaybolmasıyla baş etmek zorundadır. Bazal tabakadan çıktıktan sonra, epitel hücreleri çoğalmayı durdurur ve bir terminal diferansiyasyon programı başlatır. Replikasyonları için hücre mekanizmaları kullanan papillomavirüsler aktif olarak bölünen hücrelere ihtiyaç duyabilirler. Öte yandan, bazı viral genlerin ekspresyonu, yalnızca ayırt edici keratinositlerde ortaya çıkan transkripsiyon faktörlerini gerektirir. Bu koşullar, suprabazal ve üst granüler tabakalarda HPV DNA replikasyonunu sağlayabilir (134). E7 proteininin epitelin üst katmanlarındaki çoğalma yetkinliğinin korunması için çok önemli olduğu düşünülmektedir ancak başka bir viral protein olan E6 ile işbirliği önemli görünmektedir (135). E7, ayırt edilen hücrelerde S-faz progresyonunu ilerletirken, E6 proteini bu tür bir programlanmamış S-faz girişine yanıt olarak indüklenebilen apoptozun önlenmesinde rol oynamaktadır (136).

Sonuç olarak, HPV kaynaklı lezyonlarda bölünen hücreler suprabazal tabakalarda da bulunabilir. Bununla birlikte, enfeksiyon sırasında, üst tabakalardaki çoğalan hücreler nispeten azdır. Bu, muhtemelen hücre (siklin bağımlı kinaz inhibitörleri) ve viral (E7) hücre döngüsünü kontrol eden faktörler arasındaki denge sonucunda oluşur. Bu faktörler arasındaki denge, hücrelerin çoğunda korunur ve hücre bölünmesi yalnızca birkaçında başlatılabilir. Bu benign lezyonların aksine, kansere ilerleme gösteren bölünen hücreler, normal HPV yaşam döngüsünün düzenlenmesinin bir sonucunu temsil edebilecek suprabazal katmanlarda yaygınlaşır, özellikle E2 gibi bir "negatif düzenleyici" kaybı ve E6 ve E7 ekspresyon seviyelerinde artışla beraberlik gösterir. Hem suprabazal hem de üst katmanlarda bulunan çekirdekli ve bölünen hücrelerle normal hücre tabakalanması bozulur (137).

Daha sonra, önceden sentezlenmiş viral DNA'nın amplifikasyonu gerçekleşir ve genomlar, epitelin en üst katmanlarındaki viral çoğalmanın geç safhaları boyunca viral partiküllere doldurulur. Orta ve üst katlarda diğer viral protein E4 ve E5 eksprese edilir ve bu proteinler E1 / E2 ile birlikte viral DNA amplifikasyonuna katılırlar. Viral DNA güçlendirildiğinde, kapsül proteinleri L1 ve L2'nin sentezlenmesi başlar ve bunu bütün virionların toplanması takip eder. Bundan sonra virüsler, dökülen kornifiye skuamöz yapıyla birlikte epitelten ayrılırlar. Virüs, terminal olarak kornifiye hücrelerden nasıl kurtulur tamamen net değildir, ancak E4 proteininin keratin filamentlerini bağlayarak ve yapılarını bozarak viral çıkışa katkıda bulunduğu düşünülmektedir (137).

HPV Enfeksiyonunun Doğal Seyri

HPV enfeksiyonlarının %90'ından fazlası geçici, 6-18 ay içinde tam olarak anlaşılammış bir bağışıklık yanıtı tarafından temizlenir, bununla beraber aynı veya farklı HPV alt türleri ile yeniden enfeksiyon oluşabilir (138,139).

Enfeksiyonların tamamen temizlenip temizlenmediği ya da virüsün bazal hücrelerde gizli bulunmayacak derecede olup olmadığı tartışma konusudur. Bununla birlikte, net olan şey, daha sonraki servikal intraepitelyal neoplazi (CIN) riskinin HPV için pozitif çıkan test sayısı ile orantılı olması gerçeğidir (140). Bu, kanserojenik gelişimin, uzun süreler boyunca üretken (yani, skuamöz epitel içinde sürekli viral replikasyon) ısrar eden HPV enfeksiyonlarından kaynaklandığını düşündürmektedir. HR-HPV tiplerinin kalıcılığı, prekanseröz servikal lezyonlara ve invaziv kansere güçlü şekilde bağlıdır (141).

Genotipler ve Doku Tropizmi

Mukozal Papillomavirus Enfeksiyonları

Kondiloma Akuminata

Genital bölgede HPV'nin en yaygın belirtilerinden biridir (142) . Papül, nodül veya yumuşak, filiform, pembemsi, pediküllü büyüme gösterirler. Erkeklerde genital kondilomalar koronal sulkus ve penil shaftda bulunur. Kadınlarda lezyonlar genellikle dış genital bölgede ve servikste bulunur (143) . Hastalık genellikle cinsel yoldan

bulaşır ve HPV 2, 16, 18, 30-33, 35, 39, 41-45, 51-56,59 ve diğerleri dahil birçok başka genotip de bulunabilmesine rağmen, en sık düşük riskli HPV'ler olan HPV 6 ve 11'den kaynaklanır (144). İyi huylu genital siğillere neden olan HPV türleri, oral bölgede sorunlu papillomalara neden olabilir ve bu durum yerinden dolayı tedaviyi zorlaştırabilir.

Fokal Epitelyal Hiperplazi

Çocuklarda ve kadınlarda daha yaygın görülen nadir bir HPV ilişkili oral mukoza hastalığıdır. Lezyonlar daha çok alt dudakta bulunur, fakat daha az sıklıkla üst dudak, dil, oral mukoza, orofarinks, damak ve ağız tabanını etkileyebilir. HPV 13 ve 32 en sık görülen etkenlerdir (145).

Servikal Neoplazi ve Serviks Kanseri

Prekanseroz servikal lezyonlar, farklı derecelerde (1, 2 veya 3) CIN olarak sınıflandırılır. CIN1 patolojisi Bethesda sınıflandırma sisteminde kullanılan LSIL'a (düşük dereceli skuamöz intraepitelyal lezyon) denktir. CIN2 ve 3 yüksek dereceli skuamöz intraepitelyal lezyona eşdeğerdir. Neoplazinin şiddeti, bazal benzeri hücrelerin (yani, nükleer / sitoplazmik oranının yüksek olduğu zayıf derecede farklılaşmış hücreler) epitel yüzeyine ve suprabazal hücre bölünmesinin derecesine ne ölçüde uzandığını yansıtır. Düşük dereceli lezyonlar, tipik olarak, suprabazal hücre katmanlarında koilositlerin varlığı ile birlikte viral enfeksiyon bulgusu gösterir ve CIN1 / LSIL'in önemli bir belirteci olarak görülür. Servikal anormalliklerin %90-100'ünde HPV saptanabilir, sitolojik anormalliklerden displaziye ve serviks kanserine kadar değişebilir (146).

Vulva, Vajina, Penis ve Anüste Dahil Olmak Üzere Diğer Anogenital Kanserler

Çoğu vulvar kanserler (%92), keratinleştirici skuamöz hücreli karsinomalar (SCC) dir. HPV yaygınlığı vulvar intraepitelyal neoplazide ve bazaloid ya da siğilli kanserlerde %90, ancak keratinize SCC'nin sadece %6'sında bulunur (147). HPV 16, vulva kanserinde en belirgin tiptir ve HPV 18, 21, 31, 33 ve 34 düşük frekanslarda saptanmıştır. Buna ek olarak, HPV, vaginal kanserin % 85'inden sorumludur ve HPV

16, invaziv tümörlerin %60'ında tespit edilmiştir. HPV, penisin bazaloid ve siğilli kanserlerinde de saptanır, ancak nadiren penisin SCC ve verrüköz kanserlerinin keratinizasyonunda da bulunur. İnvaziv penil kanserde en sık görülen tip HPV 16 (%40-70), bunu HPV 6 (%22), HPV 52 (%15) ve HPV 11 (%4) izlemektedir (148). HPV, anal kanserin %80-96'sında mevcuttur ve HPV 16 en sık görülen tiptir (149).

Baş-Boyun Kanseri

HPV, HNSCC (Baş boyun skuamöz hücreli karsinomalar) gelişiminde büyük bir risk faktörü olarak kabul edilmektedir. Bir meta-analiz, HNSCC'de HPV prevalansının 2000'de %40,5 iken 2004'te %64,3'e yükseldiğini göstermiştir (150). HPV ile ilişkili HNSCC, diğer HNSCC'lerden farklı klinik ve moleküler özellikler gösterir. HNSCC prognozu değerlendirilirken hastalığın HPV ile birlikteliği rutin tanı yönteminin bir parçasıdır. HPV 16, HNSCC'de bulunan en yaygın tiptir. HPV 18, 31, 33 ve 35 gibi diğer HPV türleri de tespit edilebilir (150).

Kutanöz Papillomavirus Enfeksiyonları

Genel Siğiller

Plantar Siğiller

Düz Siğiller

Filiform Siğiller

Pigmentli Siğiller

Epidermoid Kistler

Cilt Kanseri

HPV Epidemiyoloji

Kızlarda enfeksiyon pik yaşı 20 yaşır. Cinsel yönden aktif olan kadınların %80'inin 50 yaşına kadar en az bir kere enfekte olduğu tahmin edilmektedir (151).

Dünya çapında normal servikal sitolojide 150.000'den fazla kadın içeren bir meta-analiz çalışması, HPV'nin dünya çapında yaygınlık prevalansının yaklaşık %10 olduğunu ortaya koymuştur. En yüksek bölgesel prevalans ise Afrika'daki kadınlarda ve %22 olarak bulunmuştur (152).

Servikal HPV enfeksiyonu prevalansı kadınlarda 25 yaşından sonra keskin bir şekilde azalmaktadır (153). Bazı populasyonlarda menopoza sonra ikincil olarak küçük bir HPV prevalansı zirvesi görülmüştür (154). Çin ve Afrika'da, HPV prevalansı her yaşta tekdüzeli olarak yüksektir (155).

2010 yılı içinde Türkiye İstatistik Kurumu verilerine göre KETEM tarafından 134.039 kadın, diğer sağlık kuruluşları (il ve ilçe devlet hastaneleri, üniversite hastaneleri, eğitim ve araştırma hastaneleri) tarafından ise 1.467.662 kadın serviks kanseri açısından taranmıştır. "Kanser erken teşhis tarama ve eğitim merkezi" (KETEM) tarafından 17 merkezde yapılan 3500 kadının serviks kanseri taramasında, HPV prevalansı %2,9 olarak belirtilmiştir (156).

Serviks kanseri, yaygın enfeksiyona bağlı neoplazm ve premalign prekürsör servikal intraepitelyal neoplazi (CIN), insan papilloma virüsünün (HPV) suşlarından kaynaklanır (157). HPV 16 ve HPV 18 bunlardan en fazla görülen ve en yaygın olanıdır ve vakaların yaklaşık %70'inden sorumludur (158).

Kalıcı HPV enfeksiyonu servikal kanser için en önemli etyolojik faktördür (158). HPV kalıcılığındaki kofaktörler tam olarak aydınlatılamadığından, vajinal mikrobiyotanın HPV kalıcılığıyla ilişkili olduğu düşünülmektedir (159).

HPV Enfeksiyonu için Risk Faktörleri

İnsan papilloma virüsü birçok şekilde bulaşmaktadır; kontamine yüzeylerden, ciltteki lezyonlardan ve doğum kanalından olmak üzere direkt veya indirekt olarak bulaş görülmektedir (160). Ancak, en önemli bulaş şekli cinsel yolla bulaştır (161).

Hem vajinal hem de anal cinsel ilişki, HPV enfeksiyonu için önemli risk faktörleridir (162). Kadınlarda HPV enfeksiyonu riski doğrudan erkek cinsiyet ortağı sayısı ile ilgilidir (163). Yeni bir eşle cinsel ilişki, uzun vadeli bir eşle birlikte olan cinsiyete göre daha güçlü bir risk faktörüdür (164).

Bununla birlikte, cinsel aktivite korelasyonlarına ek olarak HPV enfeksiyonunun en tutarlı belirleyicisi yaştır; çoğu çalışma 30 yaşından sonra riskte keskin bir düşüş olduğunu göstermektedir (165).

Cinsel ilişkiye başlama yaşının erken olması cinsel davranışlar için bir belirteç olacağından (daha fazla yaşam boyu cinsel partner sayısı ya da yeni cinsel partnerleri daha sıklıkla dahil etme eğiliminde olması gibi) HPV enfeksiyonu riskini artırabilir ya da ergenlik döneminde servikal ektopi oranının artması nedeniyle gerçek bir nedensel risk faktörüdür (166).

Doğru ve tutarlı prezervatif kullanımı, HPV enfeksiyonu riskini azaltır (167).

HPV prevalansının Afrika (% 20-30), Orta Amerika ve Meksika'da daha yüksek olduğu, ancak Kuzey Amerika, Avrupa ve Asya'da (% 8-11) daha düşük olduğu görülmüştür (152). Etnik kökenin risk faktörü olduğu düşünülebilir.

Castle ve arkadaşları, sigaranın HPV enfeksiyonu riskini arttırdığını tespit etmiş ve Bahmanyar ve arkadaşları da aynı şekilde sigara ile HPV enfeksiyonu arasında anlamlı bir ilişki bulmuştur (168,169).

Vajinal Mikrobiyota ve HPV İlişkisi

Lactobacillus türlerinin östrojenize servikal ve vajinal epitelyumda yüksek seviyelerde bulunan, dolayısıyla büyük miktarlarda laktik asit üreten glikojen fermantasyonu yapabilen enzimleri ifade ettiği iyi bilinir (170). Vajinadaki *Lactobacillus* spp. göreceli çokluğu ile düşük pH arasında güçlü bir korelasyon vardır.

Kosta Rika'lı dokuzbinyüztatmışbeş kadın üzerinde yapılan bir çalışmada, 5'in üzerinde vajinal pH'ın premenopozal kadınlarda %10-20 artmış HPV pozitifliği ile anlamlı olarak ilişkili olduğu gösterilmiştir (171).

Viral transformasyondan sorumlu HPV E5 proteininin düşük pH'a özellikle duyarlı olduğu bilinmektedir (172). Laktik asit tarafından oluşturulan düşük bir pH ortamı genellikle koruyucu olarak dűřünülebilirse de, HPV enfeksiyonu ve CIN gelişimi, laktik asit molekülünün kendisinin kimyasal yapısı tarafından etkilenebilir. Yüksek bir L- D-laktat oranı olasılıkla servikal bütünlüğün değişmesine neden olabilir ve virüsün geliştiği bazal keratinositlere HPV'nin girmesini kolaylaştırır (173).

L.crispatus tarafından baskın mikrobiyotanın ürettiği yüksek D-laktat konsantrasyonlarının servikovajinal mukus viskozitesini arttırdığı ve viral parçacık yakalama potansiyelini arttırdığı gösterilmiştir (174).

Vajinal laktobasillerin, normal servikal hücreler üzerinde aynı etkileri olmaksızın, pH ve laktik asitten bağımsız olarak, in vitro servikal tümör hücreleri üzerinde, sitotoksik etki oluşturabildiği görülmüştür (175).

Lactobacillus spp. pH'ı etkilemenin yanı sıra, bakteriyosid ve bakteriyostatik proteinlerin ekspresyonu vasıtasıyla patojenite gelişimini engelleyebilir (176). Mikrobiyota tarafından üretilen bakteriosinler ve biyosurfaktanlar viral infiltrasyonu da engelleyebilir, ancak mekanizmaları ve HPV enfeksiyonu ile ilgisinin anlaşılması için daha fazla çalışma gerekmektedir (177).

Disbiyotik vajinal mikrobiyota toplulukları, hem HPV epizomu hem de konakçı genomunda çift sarmal DNA kopmalarına neden olan reaktif oksijen türlerini (ROS) üretebilen yüksek seviyelerde oksidatif stresle sonuçlandığı gösterilmiştir ve böylece HPV entegrasyonuna ve nihayetinde neoplastik dönüşüme yardımcı olduğu görülmüştür (13).

HPV E6 onkoproteininin; E1 ve E2 genlerinin kaybına ve daha sonrada kontrolsüz E6 ve E7 transkripsiyonuna neden olduğu, artmış hücre proliferasyonunu sağladığı ve apoptozu azaltığı bilinmektedir (178,179).

HPV TANI

HPV enfeksiyonu olan hastaların tanısı, mevcut lezyonların görsel muayene ile değerlendirilmesi veya enfeksiyona ait belirtilerin varlığıyla konulabilirken, subklinik HPV enfeksiyonları Pap yayması incelemeleriyle veya rutin muayeneler sırasında tespit edilebilmektedir. Morfolojik, sitolojik ve kolposkopik inceleme sonuçlarının negatif olduğu latent asemptomatik HPV enfeksiyonlarının tanısı ise, ancak enfeksiyon bölgesindeki doku veya hücrelerde viral nükleik asitlerin gösterilmesiyle konulabilmektedir (180).

HPV Enfeksiyonunun Tanısında Moleküler Olmayan Yöntemler

Kolposkopi ve Asetik Asit Testi

Biyopsi

Pap Smear

HPV Moleküler Tanı Yöntemleri

Servikal örneklerde HPV'nin saptanması için ticari olarak farklı moleküler testler bulunmaktadır (181). HPV moleküler testler, servikal sitoloji ile kombinasyon halinde yüksek riskli HPV varlığını veya yokluğunu değerlendirmek üzere servikal kanser taramasında, kolposkopiye sevk gerekip gerekmediğini saptamak için, anormal servikal sitoloji sonuçlarına sahip kadınların takip testleri için FDA tarafından onaylanmıştır (182). Sinyal yükseltme ve hedef amplifikasyon temelli testler bulunmaktadır.

GEREÇ VE YÖNTEM

ÇALIŞMA GRUPLARININ OLUŞTURULMASI

Hasta Grubu

Mart 2017 – Ekim 2017 tarihleri arasında Pamukkale Üniversitesi Eğitim Uygulama ve Araştırma Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Polikliniği'ne başvuran 18 yaş ve üzeri kadınlar çalışma kapsamına alınmıştır. Jinekolojik muayeneleri yapılarak servikal ve vajinal sürüntü örnekleri alınan hastalardan, laboratuvar incelemeleri sonucu BV tespit edilen kadınlar ve HPV pozitifliği olan kadınlar hasta grubuna dahil edildi.

Hasta grubunda 18 yaş altı kadınlar, immünyet bozuk olan hastalar, son 1 ay içinde antibiyotik tedavisi alanlar, vajinal antiinflatuar ve antihistaminik ilaç kullananlar, intrauterin araç kullananlar, BV ve HPV pozitifliği olmayan kadınlar hasta grubuna dahil edilmedi.

Kontrol Grubu

Kontrol grubuna; Mart 2017 – Ekim 2017 tarihleri arasında Pamukkale Üniversitesi Eğitim Uygulama ve Araştırma Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Polikliniği'ne başvuran 18 yaş ve üzeri kadınlardan; jinekolojik muayeneleri yapılan, servikal ve vajinal sürüntü örnekleri alınan hastalardan direk mikroskopik inceleme sonucu BV tespit edilmeyen ve Real - time PCR sonucunda HPV pozitifliği olmayan kadınlar dahil edilmiştir.

18 yaş altı kadınlar, immünyet bozuk olan hastalar, son 1 ay içinde antibiyotik tedavisi alanlar, vajinal antiinflatuar ve antihistaminik ilaç kullananlar, intrauterin araç kullananlar, BV ve HPV pozitifliği olan kadınlar kontrol grubunda çalışmaya dahil edilmedi.

Etik Kurul Onayı

Çalışma öncesinde Pamukkale Üniversitesi Tıbbi Etik Kurulu'nun 10.01.2017 tarih ve 2017/01 sayılı onayı alındı. Çalışmaya dahil edilen tüm katılımcılara aydınlatılmış onam formları doldurularak yapılacaklar hakkında bilgi verildi.

ÖRNEKLERİN TOPLANMASI

Çalışmaya dahil edilen tüm katılımcılardan BV tanısı için 1 adet steril Stuart taşıma eküvyonu ile vajinal sürüntü örneği alındı. HPV varlığını araştırmak için "Cervi-Collect Specimen Collection kit Transport Tube" (Abbott, ABD)'e serviksten eküvyon ile alınan servikal örnek konuldu. Mikrobiyota tayini için "cultiplast" swaba vajinal sürüntü örneği alındı. HPV çalışmalarında kullanılmak üzere örnekler 3 gün +4°C'de saklandı. Mikrobiyota çalışmalarında kullanılmak üzere örnekler -20°C'de saklandı.

KULLANILAN CİHAZLAR (HPV)

- +4°C soğutucu (Uğur, Türkiye)
- Masaüstü vortex (Elektro-Mag M16, Türkiye)
- HPV izolasyon cihazı (ABBOTT m2000sp, ABD)
- Real-Time PCR cihazı (ABBOTT m2000rt, ABD)
- -20°C derin dondurucu (Uğur, Türkiye)

KULLANILAN SARF MALZEMELERİ (HPV)

- Cervi-Collect Specimen Collection kit Transport Tube (Abbott, ABD)
- Elüsyon için 1 adet Deep Well Plate (Abbott, ABD)
- 200 µL ve 1000 µL'lik pipet uçları
- "Reuse rak" için 1 adet "Deep Well Plate" ve boş pipet ucu haznesi (Abbott, ABD)
- 1 mL Subsystem üzerine örnek sayısı kadar 5mL reaksiyon tüpü
- Ektraksiyon reaktifleri

HPV ÇALIŞMASI

Hasta örnekleri saklandıkları +4°C soğutucudan çıkarıldı. Vortekslendi ve raklara yerleştirildi.

ABBOTT m2000sp izolasyon cihazı kullanımı

Ekstraksiyon Adımları

Çalışma için gerekli olan tüm sarf malzemeleri yüklendi (Elüsyon için 1 adet Deep Well Plate, Pipet uçları, reuse rak için 1 adet Deep Well Plate ve boş pipet ucu haznesi, 1 mL Subsystem üzerine örnek sayısı kadar 5mL reaksiyon tüpü ve Ekstraksiyon reaktifleri). İzolasyon cihazından HPV protokolü seçildi ve çalışma başlatıldı. Ekstraksiyon tamamlandıktan sonra master mix ekleme adımlarına geçildi.

Master Mix Ekleme Adımları

Yarım saat önceden oda ısısında çözdürdüğümüz “Master Mix” kasetleri ve PCR Platelere cihaza yüklendi. İzolasyon cihazından mix eklemek istediğiniz ekstraksiyon çalışması seçildi. Çalışma bittikten sonra “PCR Plate” üzeri şeffaf etiket ile sıkıca kapatıldı ve “Plate” diplerinde baloncuk olmadığına emin olundu.

Örnek barkodlarını m2000rt cihazına aktarma

Aktarmak istediğimiz HPV çalışması seçildi ve “Network Drive” yöntemiyle aktarıldı.

m2000rt Cihazı Tetkik Yükleme Adımları

Üzerini şeffaf etiket ile kapattığımız “PCR Plate” cihaza yüklendi. Çalışmanın alınacağı kaynak seçildikten sonra “Network Drive” ve HPV çalışması seçildi. Çalışma bitiminde HPV pozitifliği ve negatifliği sonucu elde edildi.

KULLANILAN CİHAZLAR (BV)

- Işık mikroskobu (Olympus model BX50F-3, Japan).

KULLANILAN SARF MALZEMELERİ (BV)

- BTR sterile Stuart Transport Swab (GÜL-KA Kimya, Türkiye)

- Lam (Isotherm microscope slides) (Unilab, Türkiye)
- Gram boyası

BV Pozitifliği ve Negatifliği Tespiti

BV tanısı için “BTR sterile Stuart transport swab” ile vajinal sürüntü örneği alındı. Gram boyama yapıldı. Nugent skoru ile değerlendirildi. Yaymaların toplam puanı 7-10 arasında ise BV pozitif, 4-6 arasında puanı olan yaymalar ara değer olarak, 0-3 arası puan alan yaymalar BV açısından negatif kabul edildi.

KULLANILAN CİHAZLAR (Vajinal mikroorganizma)

- -20°C derin dondurucu (Uğur, Türkiye)
- Su banyosu (Nüve BM 402, Türkiye)
- Vorteks cihazı (Biosan FVL-2400N, Latvia)
- Mikrosantrifüj (BOECO M-24A, Germany)
- LightCycler 480 II (Roche Diagnostics, Germany)

KULLANILAN SARF MALZEMELERİ (Vajinal mikroorganizma)

- “Cultiplast” Eküvyon ortamı
- Steril H₂O
- % 96-100 etanol
- Mikrosantrifüj tüpleri (1,5 ml)
- Mikropipet seti ve filtreli mikropipet uçları
- Spin kolonlar (2 ml tüp içinde)
- Toplama tüpleri (2 ml)
- Toplama tüpleri (1,5 ml)
- LightCycler® 480 SYBR Green I master
- Genomik DNA izolasyon kiti (RTA, Kocaeli/Türkiye)

Genomik DNA izolasyon kiti içeriği

Proteinaz K	1 viyal
Solüsyon B	11 ml

Solüsyon W1	19 ml
Solüsyon W2	28,5 ml
Solüsyon E	11 ml

VAJİNAL MİKROORGANİZMALARIN TESPİT EDİLMESİ

DNA izolasyonu; “Cultiplast swap”lardan genomik DNA izolasyon kiti kullanılarak aşağıdaki şekilde yapıldı.

DNA İZOLASYONU

1. “Swab” çubukları, 1,5 ml lik eppendorf tüplerinin içine konulduktan sonra fazla kısım makas ile eppendorf tüpünün kapağı kapanacak kadar kesildi.
2. İçinde “swab” bulunan her tüpe 500 µL “Lysis Buffer” ve 20 µL “Proteinaz K” eklendi. Tüpler, 56°C de 20 dakika inkübe edildi. (pamukçuğun “Lysis buffer” içerisinde kalmasına dikkat edildi).
3. İnkübasyondan sonra her tüp içinden 250 µL alınıp yeni tüplere aktarıldı.
4. 200 µL Solüsyon B eklendi ve 20 saniye vurum-vorteks yapılarak karıştırıldı.
5. Kısa santrifüjden sonra her 3 dakikada bir karıştırılarak 65°C de 15 dakika inkübe edildi.
6. 260 µL etanol (% 96-100) eklenip, 20 saniye vurum-vorteks yapılarak karıştırıldı. Kısa santrifüjden sonra karışım, toplama tüpünün içine yerleştirilmiş spin kolona aktarıldı.
7. 5000 x g’de 1 dakika santrifüj yapıldı. Sıvı içeren alttaki tüp atıldı. Kolon yeni bir toplama tüpüne yerleştirildi.
8. 700 µL Solüsyon W1 eklendi. 5000 x g’de 1 dakika santrifüj yapıldı. Toplama tüpündeki sıvı atıldı ve kolon yeni bir toplama tüpüne yerleştirildi.
9. 700 µL Solüsyon W2 eklendi. 16000 x g’de 1 dakika santrifüj yapıldı. Toplama tüpündeki sıvı atıldı ve kolon yeni bir toplama tüpüne yerleştirildi.
10. 16000 x g’de 3 dakika santrifüj yapıldı. Spin kolon, steril 1,5 ml lik bir mikrosantrifüj tüpüne transfer edildi.
11. 200 µL 70 °C ye ısıtılmış Solüsyon E eklendi, kolonun kapatıldı ve oda sıcaklığında 3 dakika inkübe edildi. 5000 x g’de 1 dakika santrifüj yapıldı.

12. 16000 x g'de 30 saniye santrifüj yapıldı. Spin kolon atıldı, mikrosantrifüj tüpünün içindeki elüsyon tamponunda genomik DNA bulundu.

PRİMERLER

Tablo 3. Primerler (vajinal mikroorganizma)

Oligo Adı	Baz Dizilimi 5'-3'
<i>L.crisp</i>-452F	CCT TGT ATC TCT ACA AAT GGC ACT A
<i>L.crisp</i>-1023R	ACA GGG GTA GTA ACT GAC CCT TG
<i>L.iners</i>-453F	ACA GGG GTA GTA ACT GAC CTT TG
<i>L.iners</i>-1022R	ATC TAA TCT CTT AGA CTG GCT ATG
<i>L.jens</i>F	AAG TCG AGC GAG CTT GCC TAT AGA
<i>L.jens</i>R	CTT CTT TCA TGC GAA AGT AGC
<i>gass</i>F	AGC GAG CTT GCC TAG ATG AAT TTG
<i>gass</i>R	TCT TTT AAA CTC TAG ACA TGC GTC
<i>G.vag</i>644F	GGG CGG GCT AGA GTG CA
<i>G.vag</i>851R	GAA CCC GTG GAA TGG GCC
BVAB2-619F	TTA ACC TTG GGG TTC ATT ACA A
BVAB2-1024R	AAT TCA GTC TCC TGA ATC GTC AGA
<i>Lepto</i>-395F	CAA TTC TGT GTG TGT GAA GAA G
<i>Lepto</i>-646R	ACA GTT TTG TAG GCA AGC CTA T
<i>MegaE</i>-456F	GAT GCC AAC AGT ATC AGT CCG
<i>MegaE</i>-667R	CCT CTC CGA CAC TCA AGT TCG A
<i>Mobil</i>-557F	GCT CGT AGG TGG TTC GTC GC
<i>M.mullei</i>-1026R	CCA CAC CAT CTC TGG CAT G
<i>PrevG1</i>-468F	GTC CCT TAT TGC ATG TAC CAT AC
<i>PrevG1</i>-857R	GCC GCT AAC ACT AGG TGC TA

Real-Time PCR ile Mikroorganizma Deteksiyonu

Primer ara stok hazırlanışı;

Her bir mikroorganizma için belirtilen “Forward” ve “Reverse” primerlerden 10µM ara stok oluşturuldu (Tablo 3). Bunun için 100 µM’lık ana stoktan 10 µL alınıp üzerine 90 µL su eklendi. Ardından aşağıdaki tabloda yer alan reaksiyon karışımı hazırlanarak çalışıldı (Tablo 4).

Kullanılan Enzim;

LightCycler® 480 SYBR Green I Master: Kullanıma hazır Hot-Start PCR Reaction mix (Roche, Germany)

İçerik:

FastStart Taq DNA Polymerase

Reaksiyon tamponu, dNTP mix

SYBR Green I dye ve MgCl₂

Reaksiyon Karışımının Hazırlanışı;

ROCHE LightCycler® 480 SYBR Green I Master kullanımı		
Tek reaksiyon (Hacim)	Tek reaksiyon (Konsantrasyon)	Bileşenler
1,9 µl	-	Su, PCR-grade
0,3 µl	0,3 µM	Forward Primer(F) (ara stok 10 µM)
0,3 µl	0,3 µM	Reverse Primer(R) (ara stok 10 µM)
5 µl	x	LightCycler® 480 SYBR Green I Master Enzim Karışımı (2x)

Tablo 4. Reaksiyon Karışımının Hazırlanışı (vajinal mikroorganizma)

Reaksiyon tüpünde, tek bir reaksiyon için reaktiflerin her birinden eklendi ve reaksiyon sayısı ile çarpılarak reaksiyon karışımı hazırlandı (Tablo 4).

- Plate’de yer alan kuyucuklara, her bir hasta için 7,5 µl reaksiyon karışımından transfer edildi.
- Ardından 2,5 µl hasta DNA’sı her bir kuyucuğa son reaksiyon hacmi 10 µl olacak şekilde ilave edildi.
- Hazırlanan “plate”ler (karışım ilave edildikten sonra) plate santrifüj cihazı ile santrifüj edildi. Aşağıda yer alan cihaz protokolü ile çalışma yapıldı.

Cihaz protokolü;

Program adı	Pre-inkübasyon	Amplifikasyon			“Melting-curve			Soğutma
Analiz Modu	Yok	Kuantifikasyon Modu			Erime Eğrisi Modu			Yok
Döngü Sayısı	1	45			1			1
Hedef Sıcaklık [°C]	95	95	55	72	95	60	97	40
Süre	00:05:00	00:00:10	00:00:15	00:00:20	00:00:05	00:01:00	00:00:00	00:00:30
Sıcaklık Artış Hızı [°C/s]	4.80	4.80	2.50	4.80	4.80	2.50	0.11	2.50
Okuma Modu	Yok	Yok	Yok	Tek	Yok	Yok	Devamlı	Yok

Tablo 5. Cihaz protokolü (vajinal mikroorganizma)

- 95 °C de 5 dakika pre-inkübasyonu takiben 95 °C de 10 saniye, 55 °C de 15 saniye ve 72 °C de 20 saniye olmak üzere 45 döngü amplifikasyon yapıldı (Tablo 5).
- “Melting curve” 60 °C den 97°C ye 0.11 °C/saniye eğimle oluşturulurken floresans 530 nm dalga boyunda ölçüldü.
- “LightCycler” cihazı soğutuldu.

- “Amlification Curves” kullanılarak cycle threshold değerleri ile pozitif örnekler saptandı ve “Tm Calling Modu” ile doğruluğu kontrol edilerek data analizi yapıldı.

KULLANILAN CİHAZLAR (*Gardnerella vaginalis* subsp.)

- -20 °C derin dondurucu (Uğur, Türkiye)
- Su banyosu (Nüve BM 402, Türkiye)
- Vorteks cihazı (Biosan FVL-2400N, Latvia)
- Mikrosantrifüj (BOECO M-24A, Germany)
- LightCycler 480 II (Roche Diagnostics, Germany)

KULLANILAN SARF MALZEMELERİ (*Gardnerella vaginalis* subsp.)

- “Cultiplast swab”
- Steril H₂O
- %96-100 etanol
- Mikrosantrifüj tüpleri (1,5ml)
- Mikropipet Seti ve filtreli mikropipet uçları
- Spin kolonlar (2ml tüp içinde)
- Toplama tüpleri (2 ml)
- Toplama tüpleri (1,5 ml)
- LightCycler 480 SYBR Green I Master (Roche, Germany)
- Roche High Pure PCR Template (Roche, Germany)
- Primerler
- 96’lık “multiwell plate”

“Roche High Pure PCR” Template İeriği

- “Lysis Buffer
- “Binding Buffer”
- “Proteinase K”
- “Inhibitor Removal Buffer”
- “Wash Buffer”
- “Elution Buffer”

Real-Time PCR ile *Gardnerella vaginalis* ssp. saptanması

DNA İZOLASYONU

DNA izolasyonu, “ROCHE High Pure PCR Template Preparation kit” ile aşağıda belirtilen şekilde yapıldı.

Kit kullanılmadan önce sarı etiketli solüsyonlarda ön hazırlık yapıldı.

-Liyofilize haldeki Proteinase K 4,5 ml distile su eklenerek bölündü.

-“Inhibitor Removal Buffer”, 20 ml etanol eklenerek hazırlandı.

-“Wash Buffer”, 80ml etanol eklenerek hazırlandı.

İzolasyon Basamakları

- “Swab” çubukları, 1,5 ml’ lik ependorf tüplerin içine konuldu ve sonrasında fazla kısım makas ile ependorf tüpün kapağı kapanacak kadar kesildi.
- İçinde “swab” bulunan her tüpe 500 µl ”Lysis Buffer” ve 20 µl Proteinaz K eklenildi.
- Tüpler, 56⁰C de 20 dakika inkübe edildi (Pamukçuğun “Lysis Buffer” içerisinde kalmasına dikkat edildi).
- Tüp içerisindeki swab atılarak 8000x g de 1 dk. santrifüj edildi. Süpernatant atıldı.
- Pellet üzerlerine 200 µl “Lysis Buffer” eklendi.
- 200 µl “Binding Buffer” eklenerek iyice mix edildi.
- 10 dk. 72 °C de inkübasyona bırakıldı.
- Daha sonra her tüpe 100 µl izopropanol eklenildi ve pipetle karıştırıldı. Bu basamakla, DNA’ların çökmesi sağlandı.
- Örnek sayısı kadar collection tüp çıkartıldı ve her birine filter tüp yerleştirildi.
- Hazırlanan bu karışım filter tüplere aktarıldı. 8000x g de 1 dk. santrifüj edildi.
- “Collection tüp”ler atıldı ve filtreli tüpler yeni “collection tüplere alındı.

- Her tüpe 500 µl “Inhibitor Removal Buffer” eklendi. 8000x g de 1 dk. santrifüj edildi.
- “Collection tüp”ler atıldı ve filtreli tüpler yeni “collection tüp”lere alındı.
- Her tüpe 500 µl “Wash Buffer” eklendi. 8000x g de 1 dk. santrifüj edildi.
- “Collection tüp”ler atıldı ve filtreli tüpler yeni “collection tüp”lere alındı.
- Her tüpe 500 µl “Wash Buffer” eklendi. 8000x g de 1 dk. santrifüj edildi.
- “Collection tüp”lerdeki sıvı döküldü ve tekrar 13000x g de 10 saniye spin yapıldı.
- “Collection tüp”ler atıldı ve filtreli tüpler 1,5 ml’ lik ependorflara alındı.
- Her tüpe önceden ependorf tüplere bölünerek hazırlanmış ve 72 °C de bekleyen “Elution Buffer”dan 200 µl eklendi.

“Elution Buffer”, çalışmaya başlanmadan önce 72 °C de bekletildi. “Elution Buffer”, filtredeki özel camısı yüzeye bağlanmış olan DNA’yı filtreden ayırır ve ependorf tüpte toplamamızı sağlar.

- 8000x g de 1 dk. santrifüj yapıldı.
- Filtreli tüpler atıldı ve DNA lar ependorflara toplanmış oldu.

DNA KONSANTRASYONLARININ BELİRLENMESİ

Elde edilen DNA’ların konsantrasyonları ve saflıkları belirlendi.

İzole edilmiş olan DNA ların konsantrasyonları spektrofotometrik yöntemlerle ölçüldü. Elde edilen DNA örneklerinin konsantrasyonu ve saflıkları 260 ve 280 nm dalga boylarındaki absorbanlarının ölçülmesiyle belirlendi. Absorbans oranı 1,8-2,0 olarak bulundu.

PRİMERLER

Gen ismi	Primer Adı	Primer Dizisi
“Clade” 1 (Sub C)	Forward	TTCTAGATTATTCGCCGCCAAATC
	Reverse	TTGCGATGTGTTGAAGGTAATGC
“Clade” 2 (Sub B)	Forward	GCTTGGGGTTCATATGGTGATGG
	Reverse	TCTTTATCAGACACGCCCTTAGC
“Clade” 3 (Sub D)	Forward	TGATTACGCTCACGCTCTCG
	Reverse	CGGCAACAGCTTTAGGAAGAAG
“Clade” 4 (Sub A)	Forward	CACGCTGGCACAACAATGATG
	Reverse	TTGGA ACTACGCTGATTCTACCG

Tablo 6. Primerler (*Gardnerella vaginalis subsp.*)

Primerler İçin Optimizasyon

İlk olarak primerlere, yanında gelen kullanım kılavuzlarında belirtilen 100 μM için gerekli su miktarı eklenerek 100 μM 'a (yani 100 pmol/ μl 'ye) sulandırıldı. Sulandırılan primerlerden her parametre için aşağıda belirtilen ara stoklar oluşturularak Real-Time PCR analizi için hazır hale getirildi.

Primer ara stok hazırlanışı;

“Forward” ve “Reverse” primerlerden 10 μM ara stok oluşturuldu (Tablo 6). Bunun için 100 μM 'lık ana stoktan 10 μl alınarak üzerine 90 μl su eklendi.

REAL-TIME PCR

Elde edilen DNA'lar, yukarıda belirtilen primerler ile LightCycler® 480 SYBR Green I Master kullanılarak Roche LightCycler 480 II cihazı ile çalışılmıştır.

Reaksiyon Karışımı:

Bileşenler (Tek Reaksiyon İçin)	Hacim
Su, PCR-grade	1,9 µl
Forward Primer(F) (ara stok 10 µM)	0,3 µl
Reverse Primer(R) (ara stok 10 µM)	0,3 µl
Enzim Karışımı (LightCycler® 480 SYBR Green I Master)	5 µl
	+
DNA	2,5 µl
Toplam reaksiyon hacim	10 µl

Tablo 7. Reaksiyon Karışımı (*Gardnerella vaginalis subsp.*)

7,5 µl Reaksiyon karışımı + 2,5 µl DNA = 10 µl Total Reaksiyon Hacmi

Reaksiyon tüpünde, tek bir reaksiyon için bileşenlerin her birinden (DNA hariç) eklendi ve reaksiyon sayısı ile çarpılarak reaksiyon karışımı hazırlandı (Tablo 7).

Platelere her bir reaksiyon için 7,5 µl reaksiyon karışımından transfer edildi. 2,5 µl DNA örneği her bir kuyucuğa son reaksiyon hacmi 10 µl olacak şekilde ilave edildi. Hazırlanan platelerin üzeri kapatılarak plate santrifüj cihazı ile santrifüj edilerek cihaz protokolü ile çalışma yapıldı (Tablo 8).

Cihaz Protokolü:

Program adı	Pre-inkübasyon	Amplifikasyon			Melting-curve			Soğutma
Analiz Modu	Yok	Kuantifikasyon Modu			Erime Eğrisi Modu			Yok
Döngü Sayısı	1	50			1			1
Hedef Sıcaklık [°C]	95	95	56	72	95	61	97	40
Süre	00:05:00	00:00:10	00:00:15	00:00:20	00:00:05	00:01:00	00:00:00	00:00:30
Sıcaklık Artış Hızı [°C/s]	4.80	4.80	2.50	4.80	4.80	2.50	0.11	2.50
Okuma Modu	Yok	Yok	Yok	Tek	Yok	Yok	Devamlı	Yok

Tablo 8. Cihaz Protokolü (*Gardnerella vaginalis subsp.*)

Analiz

LightCycler 480 yazılımında Amplification Curves kullanılarak Ct değerleri ile pozitif örnekler saptandı ve Tm Calling Modu ile doğruluğu kontrol edilerek data analizi yapıldı.

VERİLERİN ANALİZİ

Verilerin istatistiksel analizi SPSS ver. 24 (İL, ABD) paket programıyla analiz edilmiştir. Sürekli değişkenler ortalama \pm standart sapma, minimum ve maksimum değerler ve kategorik değişkenler sayı ve yüzde olarak ifade edilmiştir. Kategorik değişkenler arasındaki farklılıklar ise Ki-kare analizi ile incelenmiştir.

Bağımsız grupların karşılaştırılması için varsayımlar kontrol edilmiştir ve Mann Whitney U testi, Kruskal Wallis varyans analizi (post hoc: Bonferroni düzeltilmeli Mann Whitney U testi) ve tek yönlü varyans analizi (post hoc: Tukey testi) kullanılmıştır. Uyumunun değerlendirilmesinde kappa analizi kullanılmıştır. Risk faktörlerinin incelenmesinde ise lojistik regresyon analizi kullanılmıştır. Tüm analizlerde hata payı $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

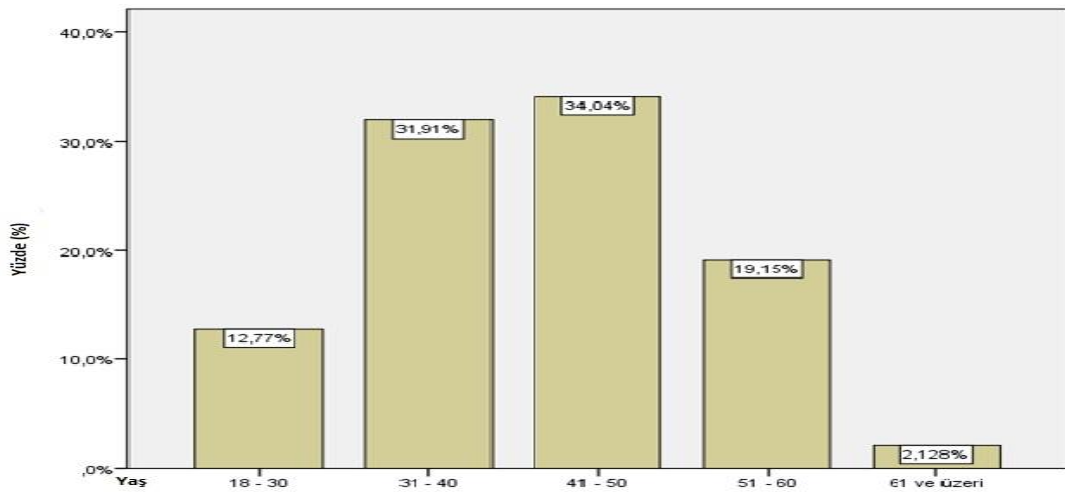
BULGULAR

Mart 2017 – Ekim 2017 tarihleri arasında Pamukkale Üniversitesi Eğitim Uygulama ve Araştırma Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Polikliniği'ne başvuran 145 kadın değerlendirilmeye alındı. Hastalar BV açısından Nugent skoruna göre değerlendirildi.

Gram boyama değerlendirme sonrasında epiteli olmayan örnekler, PNL pozitif olan örnekler, eritrosit yoğunluğu nedeniyle değerlendirilemeyen örnekler çalışma dışı bırakıldı. Çalışmaya 121 kadın dahil edildi.

Yapılan Gram boyama değerlendirme sonucu, BV negatif Nugent Skoru (NS) 0-3, BV ara değer NS 4-6, BV pozitif NS 7-10 olarak kaydedildi. BV negatif NS 0-3 %39,7 (n=48) BV ara değer NS 4-6 %21 (n=26) BV pozitif NS 7-10 %38,8 (n=47) olarak tespit edildi. BV görülme oranı %38,8 olarak bulunmuştur.

BV negatif kişilerin yaş ortalaması $39.7 \pm 9,5$ (22-67), BV ara değer kişilerin yaş ortalaması $49,04 \pm 12,6$ (27-69), BV pozitif kişilerin yaş ortalaması $41,7 \pm 10,4$ (21-61) idi. Tek yönlü varyans analiz sonuçlarına göre BV negatif, BV ara değer ve BV pozitif olan kişilerin yaşları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p=0.002$). BV ara değer olan kişilerin yaşları BV negatif ve BV pozitif kişilere göre anlamlı şekilde yüksekti.



Şekil 4. BV pozitif kadınların yaş gruplarına göre dağılımı

18-30 yaş aralığında 6 kişi, 31-40 yaş aralığında 15 kişi, 41-50 yaş aralığında 16 kişi, 51-60 yaş aralığında 9 kişi, 61 yaş ve üstü yaş aralığında 1 kişi BV pozitif olarak tespit edildi. BV pozitifliği en fazla 3. ve 4. dekatta görüldü (Şekil 4).

BV negatif, BV ara değer ve BV pozitif olma durumuna göre, kişilerin adet dönemleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur ($p=0.019$). Sekratuar fazda BV pozitifliğinde artış tespit edilmiştir (Tablo 9).

BV negatif, BV ara değer ve BV pozitif olma durumuna göre son ilişki zamanı (Hastaneye başvurudan önceki 1-3 gün içerisinde, 3-7 gün içerisinde ve 7 günden daha fazla sürede) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur ($p=0,027$). Hastaneye başvurudan önceki 1-3 gün içerisinde cinsel ilişkisi olan kişilerde BV görülme oranı daha fazlaydı (%29,3) (Tablo 9).

Çocuk isteyen 5 kişi ve menapozda olan 47 kişi cinsel ilişkide korunmuyordu. BV negatif, BV ara değer ve BV pozitif olma durumuna göre cinsel ilişkide korunan ve korunmayan kişiler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur ($p=0.002$). İlişkide korunanlarda BV negatifliği daha fazla orandadır (%72,9) (Tablo 9).

Araştırmaya katılan kişiler vajinal duş uygulaması yapmıyorlardı ve vajinal duş jeli kullanmıyordu. Gruplar arasında medeni durumları, sigara kullanımı, son 1 ay içinde ilaç kullanımı, korunma yöntemleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu ($p>0.05$) (Tablo 9).

Korunma yöntemi kullanan kişilerin kullandıkları yöntemlere göre, BV negatif, BV ara değer ve BV pozitif olma durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamış olsa da prezervatif kullanan kişilerde BV negatifliği diğer gruplara göre daha fazlaydı (%42.9). Bir korunma yöntemi kullanan ama korunma yöntemi olarak prezervatif kullanıcısı olmayan kişilerde BV oranı daha fazlaydı (%76.9).

Tablo 9. Araştırma grubunda BV negatif, BV ara değer ve BV pozitif kişilerin değişken dağılımı

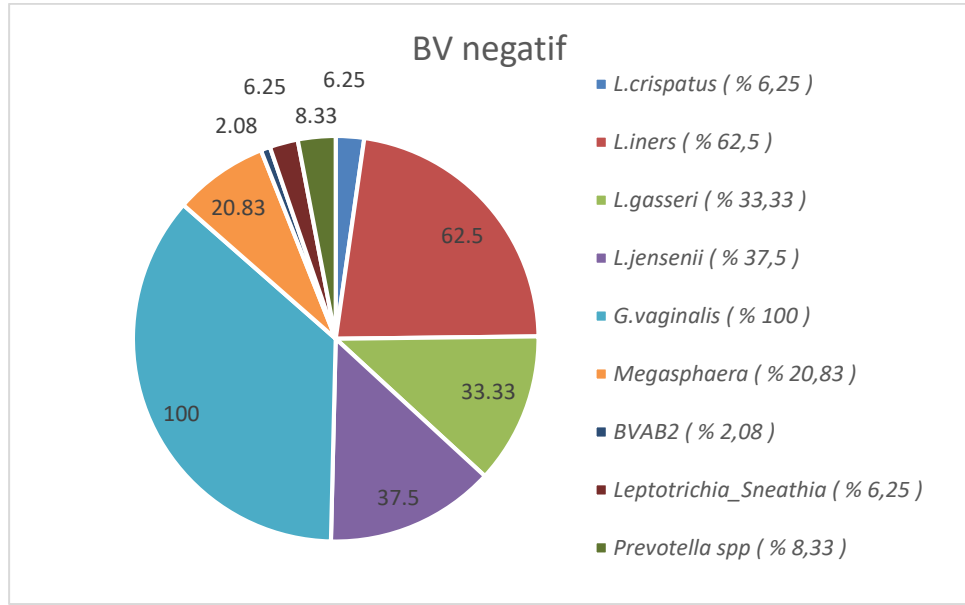
Değişkenler	BV negatif		BV ara değer		BV pozitif		P değeri
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	
MEDENİ DURUM							
Evli	43	89,6	18	69,2	40	85,1	0,092
Bekar	5	10,4	8	30,8	7	14,9	
SİGARA							
Kullanıyor	12	25,5	4	15,4	7	14,9	0,371
Kullanmıyor	35	74,5	22	84,6	40	85,1	
MENS SİKLÜS							
MF+PF+O	13	27,1	3	11,5	12	25,5	0,019*
SF	23	47,9	6	23,1	17	36,2	
Menapoz	12	25	17	65,4	18	38,3	
VAGİNAL DUŞ+JEL							
Yapıyor	0	0	0	0	0	0	-
Yapmıyor	48	100	26	100	47	100	
SON İLİŞKİ TARİHİ							
1-3 gün önce	7	16,3	3	18,8	12	29,3	0,027*
3-7 gün önce	13	30,2	2	12,5	12	29,3	
7 günden fazla	23	53,5	11	68,8	17	41,4	
İlişkiye girmeyenler	5		10		6		
İLAÇ KULLANIMI							
Var	6	12,5	5	19,2	4	8,5	0,427
Yok	42	87,5	21	80,8	43	91,5	
KORUNMA							
Var	35	72,9	8	30,8	26	55,3	0,002*
Yok	13	27,1	18	69,2	21	44,7	
KORUNMA YÖNTEMİ							
Prezervatif	15	42,9	1	12,5	6	23,1	0,107
Diğer yöntemler; Doğum kontrol hapi, geri çekme	20	57,1	7	87,5	20	76,9	

MF: Menstrual Faz PF: Proliferatif Faz O: ovulasyon SF: Sekretuar Faz

*İstatistiksel olarak anlamlı (p<0.05)

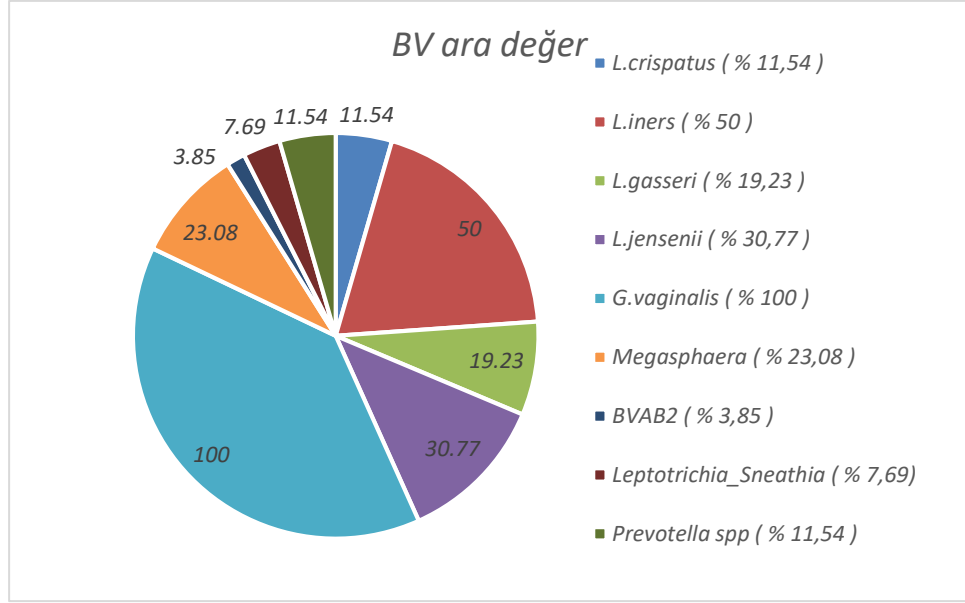
Lojistik regresyon analizi ile yapılan risk faktörü incelemesinde kişilerin yaşları, medeni hali, cinsel ilişki varlığı, sigara kullanımı, adet dönemleri, korunma ve korunma yöntemi risk faktörü olarak bulunmadı ($p>0.05$).

BV negatif örneklerde *L.iners* (%62,5) diğer *Lactobacillus* türlerinden daha fazla olarak görüldü. Tüm örneklerde *G.vaginalis* mevcuttu. Örneklerde *Lactobacillus* türleri hariç tutulduğunda araştırılan bakterilerden *G.vaginalis* (%100) ve *Megasphaera* (%20,83) daha fazla olarak görülmüştür (Şekil 5).



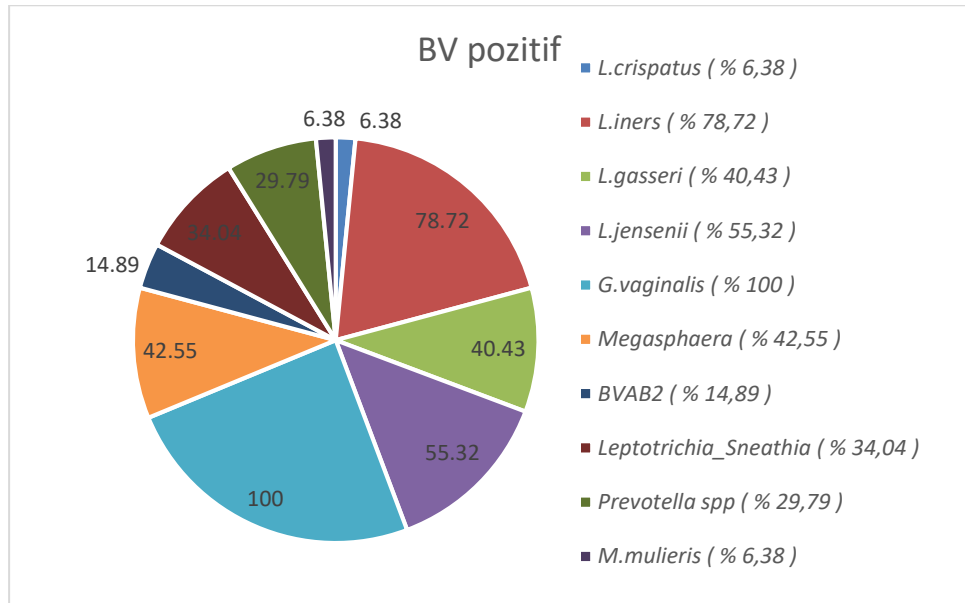
Şekil 5. BV negatif örneklerde PCR ile belirlenen bakterilerin yüzdeleri

BV ara değere sahip örneklerde *L.iners* (%62,5) ve bunu takiben *L.jensenii* (%37,5) diğer *Lactobacillus* türlerinden daha fazla olarak görüldü. Tüm örneklerde *G.vaginalis* mevcuttu. Örneklerde *Lactobacillus* türleri hariç tutulduğunda araştırılan bakterilerden *G.vaginalis* (%100), *Megasphaera* (%20,83) ve bunu takiben *Prevotella spp.* (%8,33) daha fazla olarak görülmüştür (Şekil 6).



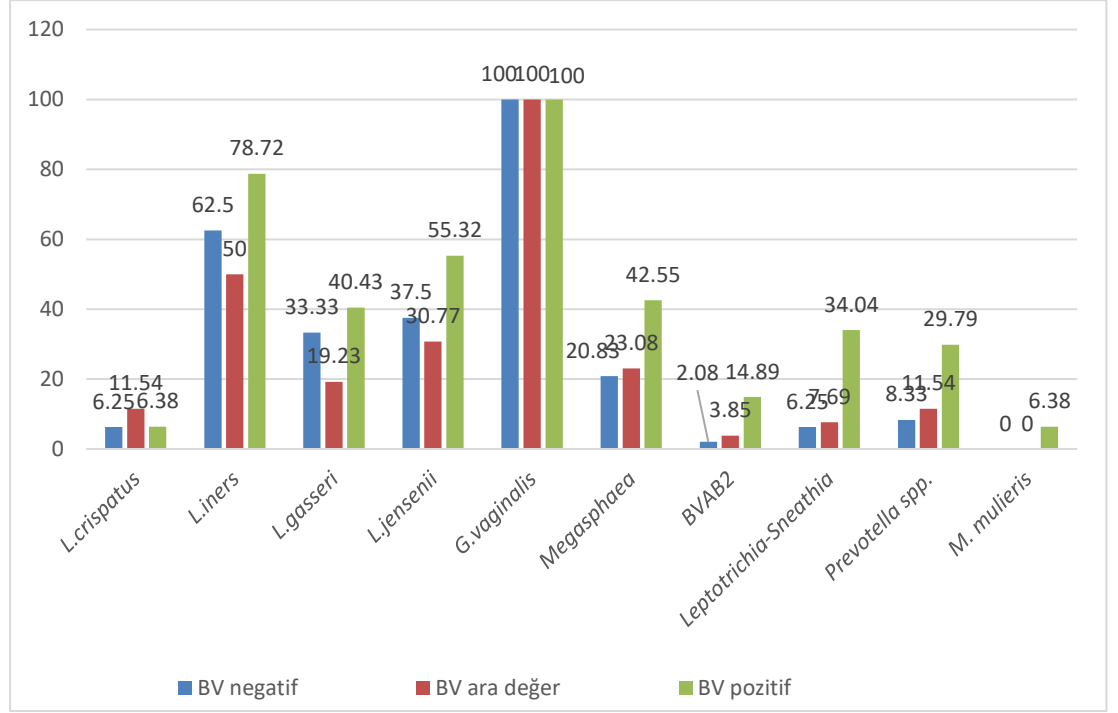
Şekil 6. BV ara değere sahip örneklerde PCR ile belirlenen bakterilerin yüzdeleri

BV pozitif örneklerde *L.iners* (%78,72) ve bunu takiben *L.jensenii* (%55,32) diğer *Lactobacillus* türlerinden daha fazla olarak görüldü. Tüm örneklerde *G.vaginalis* mevcuttu. Örneklerde *Lactobacillus* türleri hariç tutulduğunda araştırılan bakterilerden *G.vaginalis* (%100), *Megasphaera* (%42,55) ve bunu takiben *Leptotrichia-sneathia* (%34,04) daha fazla olarak görülmüştür (Şekil 7).



Şekil 7. BV pozitif örneklerde PCR ile belirlenen bakterilerin yüzdeleri

L.iners, *L.gasseri*, *L.jensenii*, *G.vaginalis*, *Megasphaera*, *BVAB2*, *Leptotrichia/Sneathia*, *Provetella spp.* ve *M.mulieris* en fazla oranda BV de saptandı. *L.crispatus* en yoğun olarak BV ara değerde saptandı. *L.iners* tüm örneklerde en sık saptanan *Lactobacillus* türü idi. *M.mulieris* sadece BV örneklerinde tespit edildi (Şekil 8).



Şekil 8. BV negatif, BV ara değer ve BV pozitif örneklerde PCR ile belirlenen bakterilerin birlikte yüzdeleri

Lactobacillus tür sayısı ortalaması BV negatif örneklerde $1,4 \pm 0,94$ (0-3), BV ara değer örneklerde $1,12 \pm 1,24$ (0-4) ve BV pozitif örneklerde $1,81 \pm 0,97$ (0-3) olarak tespit edildi. Post hoc incelemeye göre BV ara değer ile BV pozitif arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p=0,013$). BV pozitif örneklerdeki toplam laktobasil tür sayısı BV ara değer örneklerindeki ortalama laktobasil tür sayısına göre anlamlı şekilde yüksektir.

Lactobacillus türleri hariç tutulduğunda (*G.vaginalis*, *Megasphaera*, *BVAB2*, *Leptotrichia/Sneathia*, *Provetella spp.*, *M.mulieris*) araştırılan tür sayısı ortalaması

BV negatif örneklerde $1,36 \pm 0,7$ (1-4) , BV ara değer örneklerde $1,46 \pm 0,81$ (1-3) ve BV pozitif örneklerde $2,28 \pm 1,48$ (1-6) olarak tespit edildi. Post hoc incelemeye göre BV pozitif örneklerde, BV ara değer ve BV negatif örneklere göre tür sayısı ortalaması anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p=0,001$).

L.iners, *Megaspheara*, *BVAB2*, *Leptotrichia/Sneathia* ve *Provetella spp.*, varlığı, BV pozitif örneklerde, BV ara değer ve BV negatif örneklere göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksektir (Tablo 10).

Tablo 10. PCR ile belirlenen bakterilerin BV negatif, BV ara değer ve BV pozitif örnekler ile ilişkisi

Bakteri	P değeri
<i>L.crispatus</i>	0.667
<i>L.iners</i>	0.036*
<i>L.gasseri</i>	0.183
<i>L.jensenii</i>	0.078
<i>G.vaginalis</i>	–
<i>Megaspheara</i>	0.048*
<i>BVAB2</i>	0.042*
<i>Leptotrichia/Sneathia</i>	0.001*
<i>Provetella spp.</i>	0.016*
<i>M.mulieris</i>	0.089

–: %100 olmasından dolayı test edilememiştir.

Çalışmada bakılan tüm bakterilerin, birlikte bulunma durumları incelenmiştir. Anlamlı uyuma sahip olanlar tablolştırılmıştır.

Megaspheara - *L.iners*, *Megaspheara* - *L.gasseri*, *Megaspheara* - *L.jensenii*, *Megaspheara* - *BVAB2*, *Megaspheara* - *Leptotrichia/Sneathia*, *Provetella spp.* - *L.gasseri*, *Provetella spp.* - *Megaspheara*, *Provetella spp.* - *Leptotrichia/Sneathia*,

Provetella spp. - BVAB2 ve *Leptotrichia/Sneathia* - BVAB2'nin aynı anda birlikte saptanmaları anlamlıydı ($p<0.05$) (Tablo 11).

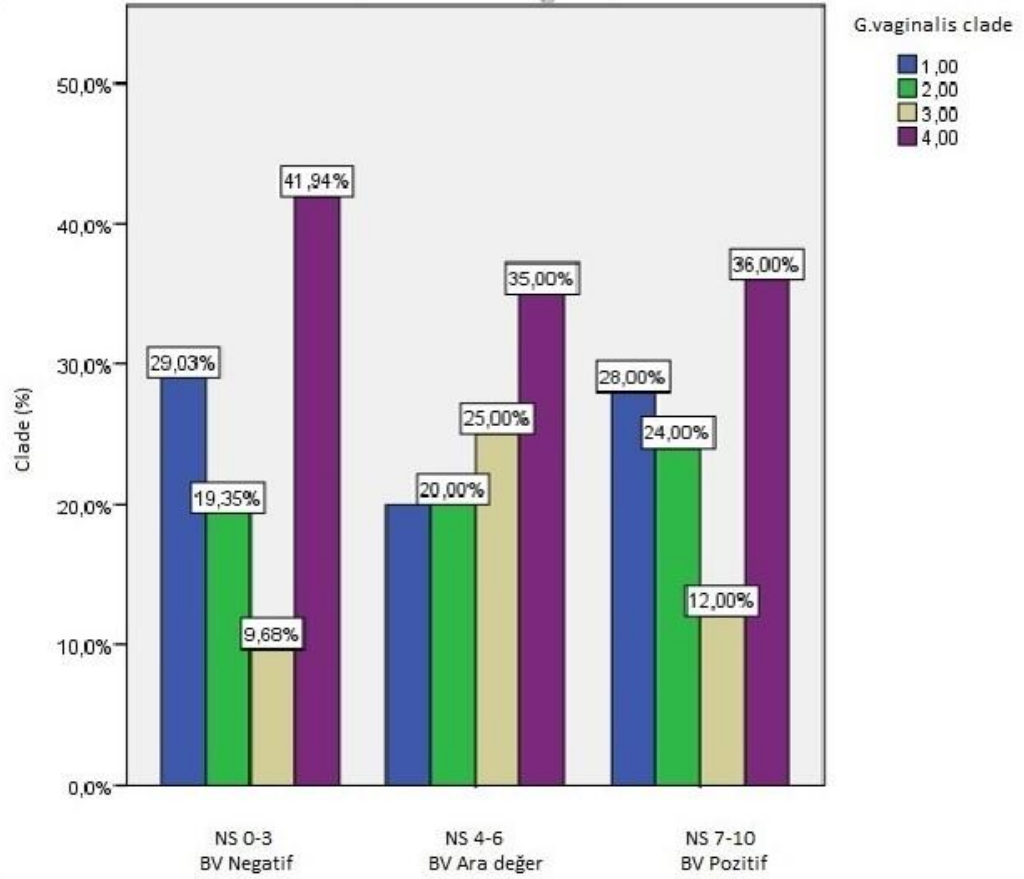
Tablo 11. BV pozitif örneklerde bakterilerin aynı anda saptanmaları

Bakteri	Kappa	Var-var uyumu	Toplu uyum
<i>Megaspheara</i> - <i>L.iners</i>	0,255	%40,4	%59,5
<i>Megaspheara</i> - <i>L.gasseri</i>	0,343	%25,5	%68,1
<i>Megaspheara</i> - <i>L.jensenii</i>	0,414	%34,0	%70,2
<i>Megaspheara</i> - BVAB2	0,382	%14,9	%72,3
<i>Megaspheara</i> - <i>Leptotrichia/Sneathia</i>	0,464	%25,5	%74,4
<i>Provetella spp.</i> - <i>L.gasseri</i>	0,308	%19,1	%68,0
<i>Provetella spp.</i> - <i>Leptotrichia/Sneathia</i>	0,511	%21,3	%78,7
<i>Provetella spp.</i> - <i>Megaspheara</i>	0,547	%25,5	%78,7
<i>Provetella spp.</i> - BVAB2	0,465	%12,8	%80,9
<i>Leptotrichia/Sneathia</i> - BVAB2	0,287	%10,6	%72,3

Çalışmaya katılan 121 hastanın tümünde PCR da *G.vaginalis* tespit edildi. Katılımcıların arasından rastgele seçilen 50 kişinin *G.vaginalis* subtipleri çalışıldı.

Rastgele seçilen 50 kişinin 18 i (%36) BV negatif, 20 si (%40) BV ara değer, 12 si (%24) BV pozitif.

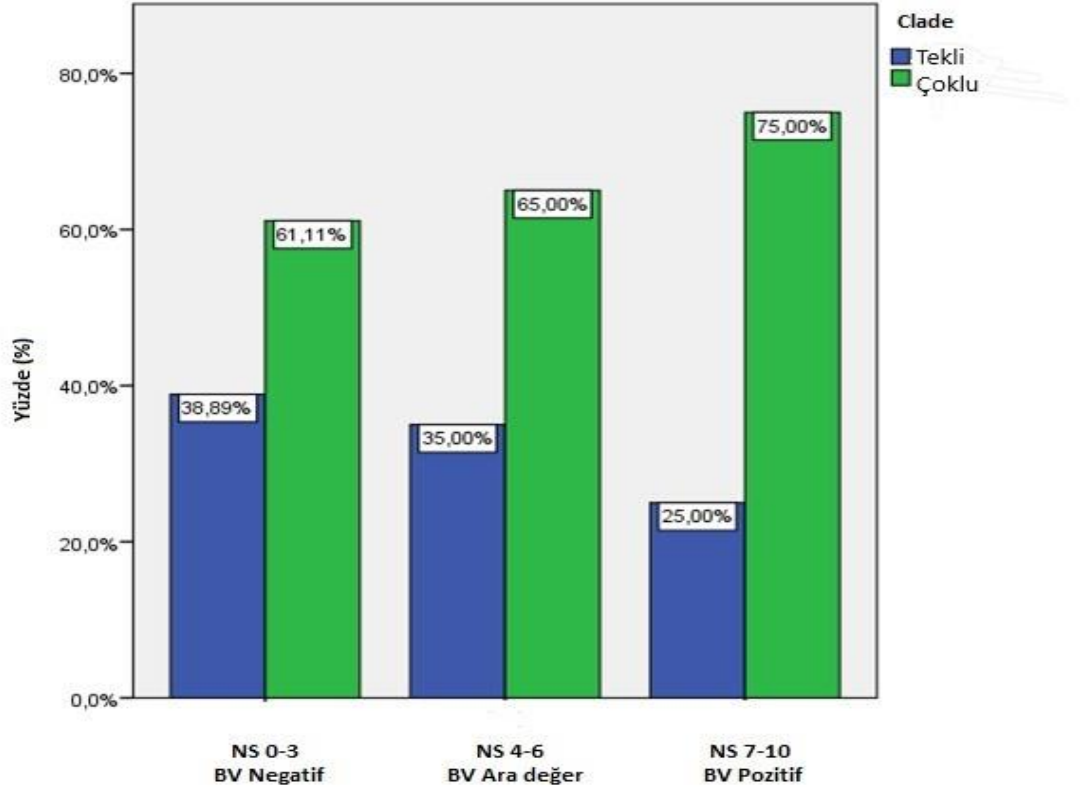
Subtiplendirmesi yapılan vajinal örneklerde durumdan bağımsız olarak en yaygın “clade” 4 suşu izole edildi. BV negatif grupta (%41.94), BV ara değerli grupta (%35) ve BV pozitif grupta (%36) olarak tespit edildi. “Clade” 3 suşları en az izole edilen suş olarak tespit edildi (Şekil 9).



Şekil 9. *Gardnerella vaginalis* “clade”lerin BV negatif, BV ara değer ve BV pozitif örneklerdeki yüzdeleri

Örneklerin tümünde “clade” 1 %25, “clade” 2 %20,8, “clade” 3 %16,7, “clade” 4 %38,5 olarak tespit edildi.

Tüm örneklerin 17 sinde (%34) tek “clade”, 33 (%66) tanesinde çoklu “clade” tespit edildi. Tek “clade” saptanan örneklerden 13 tanesi “clade” 4, 3 tanesi “clade” 2 ve 1 tanesi “clade” 1 idi. “Clade” 3 sadece çoklu “clade” toplulukları arasında saptandı. Çoklu “clade”lerin 20 tanesinde 2 “clade” birlikteliği 13 tanesinde 3 “clade” birlikteliği bulunmaktaydı (Şekil 10).



Şekil 10. *G.vaginalis* “clade”lerin BV negatif, BV ara değer ve BV pozitif örneklerdeki tekli ve çoklu clade yüzdeleri.

“Clade”lerin BV negatif, BV ara değer, BV pozitif örneklerde tekli ve çoklu bulunması arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0,722$). İstatistiksel olarak anlamlı bulunmasa da, BV pozitif örneklerde çoklu “clade”le birliktelik tekli “clade”le birliktelikten 3 kat fazlaydı (Tablo12).

Tablo 12. “Clade”lerin BV negatif, BV ara değer, BV pozitif örneklerde tekli ve çoklu bulunması arasındaki ilişki

Tekli- çoklu “Clade”	BV negatif Sayı	BV negatif %	BV ara değer Sayı	BV ara değer %	BV pozitif Sayı	BV pozitif %
Tekli	7	39,9	7	35,0	3	25,0
Çoklu	11	61,1	13	65,0	9	75,0

G.vaginalis “clade”lerinin BV negatif, BV ara değer ve BV pozitif örnekler ile ilişkisi incelendiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığın bulunmadığı görüldü

($p>0,05$). İstatistiksel olarak anlamlı bulunmasa da ($p>0,05$), BV ara değere sahip örneklerde diğer gruplara göre “clade” 3 daha fazla görünmekteydi (Tablo 13).

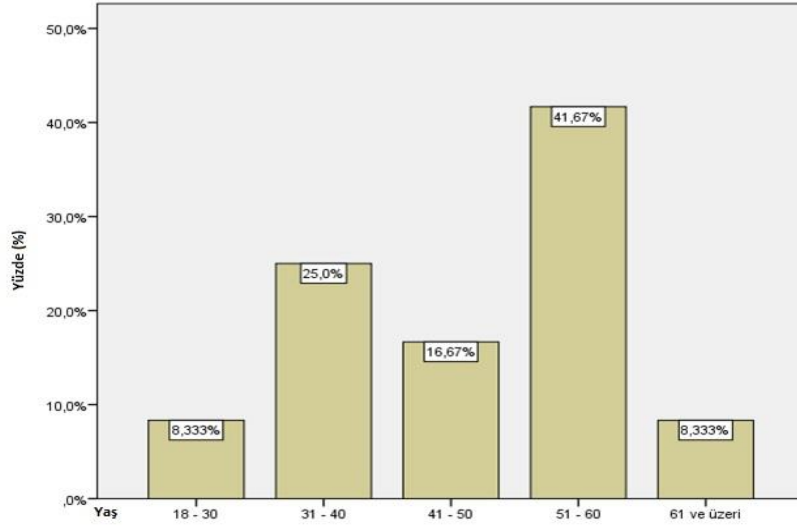
Tablo 13. *G.vaginalis* “clade”lerinin BV negatif, BV ara değer ve BV pozitif örnekler ile ilişkisi

“Clade”	BV negatif Sayı	BV negatif %	BV ara değer Sayı	BV ara değer %	BV pozitif Sayı	BV pozitif %	p değeri
“Clade”1 Yok Var	9	50	12	60	5	41,7	0,59
	9	50	8	40	7	58,3	
“Clade”2 Yok Var	12	66,7	12	60	6	50	0,66
	6	33,3	8	40	6	50	
“Clade”3 Yok Var	15	83,3	10	50	9	75	0,073
	3	16,7	10	50	3	25	
“Clade”4 Yok Var	5	27,8	6	30	3	25	0,954
	13	72,2	14	70	9	75	

Çalışmaya katılan 121 kişiden 12 sinde HPV pozitifliği tespit edildi. 109 kişi HPV negatifti. HPV görülme oranı %9,9 olarak bulunmuştur.

HPV negatif kişilerin yaş ortalaması $41,98\pm 10,9$ (21-69), HPV pozitif kişilerin yaş ortalaması $47,08\pm 12,28$ (24-63) idi. Gruplar arasında yaş ortalaması bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu (Mann-Whitney U testi, $p=0.125$). Anlamlı fark olmamasına rağmen HPV pozitif kişilerin yaşları daha yüksekti ($p>0,05$).

18-30 yaş aralığında 1 kişi, 31-40 yaş aralığında 3 kişi, 41-50 yaş aralığında 2 kişi, 51-60 yaş aralığında 5 kişi, 61 yaş ve üstü yaş aralığında 1 kişi HPV pozitif olarak tespit edildi. En fazla HPV pozitifliği 3. ve 5. dekatta görüldü (Şekil 11).



Şekil 11. HPV pozitif kadınların yaş gruplarına göre dağılımı

Hastanemizde HPV pozitif örnekler HPV 16, HPV 18 ve diğer riskli gruplar olarak değerlendirilmektedir. HPV 16 %58,33 (n=7) en sık saptanan HPV tipi olarak tespit edilmiştir. Diğer riskli gruplar %33,33 (n=4), HPV 18 %8,33 (n=1) olarak tespit edildi.

HPV negatif ve HPV pozitif olma durumuna göre, kişilerin medeni durumları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur. Evli olan kişilerin HPV pozitif olma durumları bekar kişilere göre daha düşüktür (p=0.028) (Tablo 14).

Gruplar arasında sigara kullanımı, adet dönemleri, son ilişki zamanı, son 1 ay içinde ilaç kullanımı, korunma ve korunma yöntemleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu (p>0.05) (Tablo 14).

Tablo 14. HPV negatif ve HPV pozitif kişilerin değişken dağılımı

Değişkenler	HPV negatif		HPV pozitif		P değeri
	Sayı (n)	Oran (%)	Sayı (n)	Oran (%)	
MEDENİ DURUM					
Evli	94	86,2	7	58,3	0,028*
Bekar	15	13,8	5	41,7	
SİGARA					
Kullanıyor	20	18,5	3	25	0,698
Kullanmıyor	88	81,5	9	75	
MENS SİKLÜS					
MF+PF+O	25	22,9	3	25	0,207
SF	44	40,4	2	16,7	
Menapoz	40	36,7	7	58,3	
VAGİNAL DUŞ+JEL					
Yapıyor	0	0	0	0	-
Yapmıyor	109	100	12	100	
SON İLİŞKİ TARİHİ					
1-3 gün önce	21	22,8	1	12,5	0,691
3-7 gün önce	24	26,1	3	37,5	
7 günden fazla	47	51,1	4	50	
İlişkiye girmeyenler	17		4		
SON 1 AY İÇİNDE İLAÇ KULLANIMI					
Var	13	11,9	2	16,7	0,644
Yok	96	88,1	10	83,3	
KORUNMA VAR	64	58,7	5	41,7	0,258
YOK	45	41,3	7	58,3	
KORUNMA YÖNTEMİ					
Prezervatif	19	29,7	3	60	0,318
Diğer yöntemler; Doğum kontrol hapi, geri çekme	45	70,3	2	40	

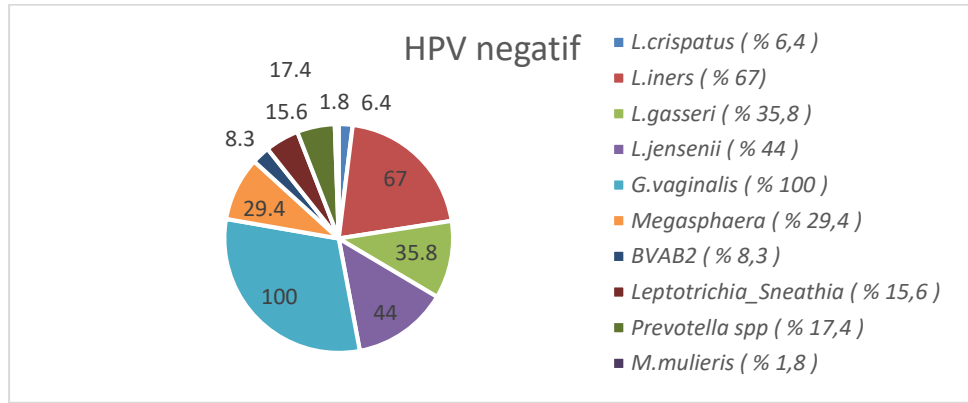
MF: Menstrual Faz PF: Proliferatif Faz O: ovulasyon SF: Sekretuar Faz

*İstatistiksel olarak anlamlı (p<0.05)

Lojistik regresyon analizi ile yapılan risk faktörü incelemesinde yaş, cinsel ilişki varlığı ve yokluğu, sigara kullanımı, korunma ve korunma yöntemi risk faktörü

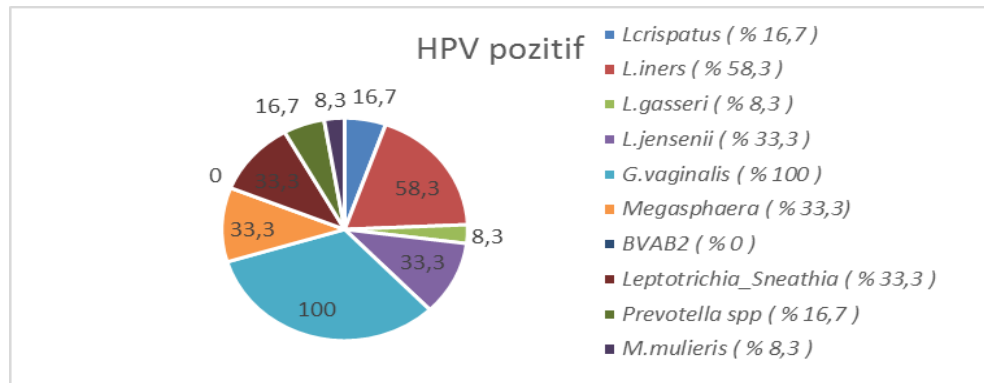
olarak bulunmadı ($p>0.05$). Gruplar arasında medeni durum anlamlı risk faktörü olarak bulunmuştur ($p=0.021$). Bekar olan kişilerin HPV pozitif olma riski evli olan kişilere göre 4,48 kat daha fazladır (Odds oranı=4.48).

HPV negatif örneklerde *L.iners* (%67) diğer *Lactobacillus* türlerinden daha fazla olarak görüldü. Tüm örneklerde *G.vaginalis* mevcuttu. Örneklerde *Lactobacillus* türleri hariç tutulduğunda araştırılan bakterilerden *G.vaginalis* (%100) ve *Megasphaera* (%29,4) daha fazla olarak görülmüştür (Şekil 12).



Şekil 12. HPV negatif örneklerde PCR ile belirlenen bakterilerin yüzdeleri

HPV pozitif örneklerde *L.iners* (%58,3), diğer *Lactobacillus* türlerinden daha fazla görüldü. Tüm HPV pozitif örneklerde *G.vaginalis* mevcuttu. *BVAB2* HPV pozitif örneklerde tespit edilmedi. *Lactobacillus* türleri hariç tutulduğunda araştırılan bakterilerden *G.vaginalis* (%100), *Megasphaera* (%33,3) ve *Leptotrichia/Sneathia* (%33,3) daha fazla olarak görülmüştür (Şekil 13).



Şekil 13. HPV pozitif örneklerde PCR ile belirlenen bakterilerin yüzdeleri

Lactobacillus tür sayısı ortalaması HPV negatif örneklerde 1.53 ± 1.07 (0-4), HPV pozitif örneklerde 1.17 ± 0.83 (0-3) olarak tespit edildi. HPV negatif ve HPV pozitif örneklerde *Lactobacillus* tür sayısı ortalaması arasında anlamlı farklılık bulunmadı ($p=0,23$).

Lactobacillus türleri hariç tutulduğunda (*G.vaginalis*, *Megasphaera*, *BVAB2*, *Leptotrichia/Sneathia*, *Provetella spp.*, *M.mulieris*) araştırılan tür sayısı ortalaması HPV negatif örneklerde 1.72 ± 1.17 (1-6), HPV pozitif örneklerde 1.92 ± 1.24 (1-5) olarak tespit edildi. HPV negatif ve HPV pozitif örneklerde *Lactobacillus* türleri hariç tutulduğunda araştırılan tür sayısı ortalaması arasında anlamlı farklılık bulunmadı ($p=0,436$).

PCR ile belirlenen bakterilerle HPV pozitifliği arasındaki ilişki değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi ($p>0,05$) (Tablo 15).

Tablo 15. PCR ile belirlenen bakterilerin HPV pozitifliği ile ilişkisi

Bakteri	P değeri
<i>L.crispatus</i>	0,219
<i>L.iners</i>	0,538
<i>L.gasseri</i>	0,101
<i>L.jensenii</i>	0,477
<i>G.vaginalis</i>	–
<i>Megasphaera</i>	0,749
<i>BVAB2</i>	0,596
<i>Leptotrichia/Sneathia</i>	0,219
<i>Provetella spp.</i>	0,947
<i>M.mulieris</i>	0,271

–: %100 olmasından dolayı test edilememiştir.

Çalışmada bakılan tüm bakterilerin, birlikte bulunma durumları incelenmiştir. Anlamlı uyuma sahip olanlar değerlendirilmiştir. *Megasphaera* - *L.crispatus*, *Megasphaera* - *Leptotrichia/Sneathia*, *L.gasseri* - *Provetella spp.*, *L.gasseri* -

M.mulieris ve *M.mulieris* - *Provetella spp.*'nin aynı anda birlikte saptanmaları anlamlıydı ($p<0.05$) (Tablo 16).

Tablo 16. HPV pozitif örneklerde bakterilerin aynı anda saptanmaları

Bakteri	Kappa	Var-var uyumu	Toplu uyum
<i>Megasphaera - L.crispatus</i>	0,571	%16,7	%83,4
<i>Megasphaera - Leptotrichia/Sneathia</i>	0,625	%25,5	%83,3
<i>L.gasseri - Provetella spp.</i>	0,625	%8,3	%91,6
<i>L.gasseri - M.mulieris</i>	1	%8,3	%100
<i>M.mulieris - Provetella spp</i>	0,625	%8,3	%91,6

HPV pozitifliği ve negatifliği ile BV negatif, BV ara değer ve BV pozitif gruplar arasındaki ilişki değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p=0,525$). İstatistiksel olarak anlamlı fark bulunmasa da, BV negatif (%93) grupta HPV'nin negatifliği, BV ara değer (%88,5) ve BV pozitif (%87,2) gruptan daha fazla olarak bulunmuştur (Tablo 17).

Tablo17. HPV pozitifliği ve negatifliği ile BV negatif, BV ara değer ve BV pozitif gruplar arasındaki ilişki

HPV	BV negatif Sayı	BV negatif %	BV ara değer Sayı	BV ara değer %	BV pozitif Sayı	BV pozitif %	p değeri
Yok	45	93,8	23	88,5	41	87,2	0,525
Var	3	6,3	3	11,5	6	12,8	

TARTIŞMA

BV, her yıl milyonlarca kadını etkileyen vajinal mikrobiyotanın ekolojik bir bozukluğudur (183).

Çalışmamızda BV prevalansı %38,8 olarak bulunmuştur. Yapılan çalışmalarda BV prevalansları arasında farklılıklar olduğu görülmüştür. Güney Afrika'da BV prevalansı %44, 163 kadınla İsveç'te yapılan bir çalışmada BV prevalansı %44,7, Seattle'da 264 kadınla yapılan çalışmada BV prevalansı %30,7 olarak tespit edilmiştir. Li ve arkadaşlarının büyük bir popülasyonla Çin'in Anhui eyaletindeki doğurganlık çağındaki 53.652 evli kadınla yaptıkları çalışmada BV prevalansı %11,99 olarak tespit edilmiştir (71,184-186). BV prevalansları arasındaki farklılıklar, coğrafi bölge farklılıklarından, çalışmalara dahil edilen topluluğun büyüklüğünden, kişilerin sosyoekonomik düzeylerinden ve kişisel davranışlarından kaynaklanıyor olabilir.

Çalışmamızda, BV negatif kişilerin yaş ortalaması $39.7 \pm 9,5$ (22-67), BV ara değer kişilerin yaş ortalaması $49,04 \pm 12,6$ (27-69), BV pozitif kişilerin yaş ortalaması $41,7 \pm 10,4$ (21-61) idi. Tek yönlü varyans analiz sonuçlarına göre BV negatif, BV ara değer ve BV pozitif olan kişilerin yaşları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p=0.002$). BV ara değer olan kişilerin yaşları BV negatif ve BV pozitif kişilere göre anlamlı şekilde yüksekti. BV ara değer olan örnekler; Nugent skorlamasına göre 4-6 arasında puanı olan şüpheli yaymalardır ve vajinal mikst flora olarak değerlendirilirler. Çalışmamızda BV ara değer kişilerin yaşları perimenapozal ve post menapozal döneme denk gelmekteydi. Postmenopozal kadınlarda vajinada *Lactobacillus* kolonizasyonunda fizyolojik azalma meydana gelir. Bu azalma bakteriyel-vajinozis prevalansında artışa neden olmaz (187). Aynı zamanda ürogenital atrofi yaygın bir menopoz problemidir ve östrojen eksikliğinden kaynaklanır. Perimenapozal kadınların %15'i ve postmenopozal kadınların %40-57'si ürogenital atrofiden kaynaklanan semptomlara sahiptir (188). Vajinal atrofi dahil olmak üzere postmenopozal vajinal ortam, yaşları yüksek olan kadınlarda vajinal enfeksiyonlara neden olabilen bakterilerin kolonizasyonunda kaymaya katkıda bulunabilir (189). Çalışmamızda yaşları yüksek olan kadınlarda *Lactobacillus*

kolonizasyonundaki fizyolojik azalma ve vajinal atrofi sonucu BV ara değer daha fazla görülmüş olabilir.

Çalışmamızda BV görülme sıklığı 31-40 yaş aralığında %31.91 (n=15) ve 41-50 yaş aralığında %34,04 (n=16) yüksek oranda grlmştir. Ranjit ve arkadaşları, çalışmalarında benzer bulguları tespit etmişlerdir (190). Gergova ve arkadaşları, 1523 Bulgar kadınla yaptıkları çalışmalarında BV'in en fazla 21-25 yaş aralığında görüldüğünü tespit etmişlerdir (% 33.21) (191). BV'in 31-50 yaş aralığında fazla görülmesinin nedeni, bu yaşların cinsel aktif yaşlar olması ve gençlere göre daha fazla cinsel beraberlik geçmişine sahip olmalarına bağlı olabilir.

Çalışmamızda lojistik regresyon analizi ile yapılan risk faktörü incelemesinde gruplar arasında medeni durum risk faktörü olarak bulunmadı ($p>0.05$). Benzer şekilde Abdullateef ve arkadaşlarının Nijerya Üniversitesi Ilorin Eğitim Hastanesi jinekoloji kliniğinde yaptıkları çalışmada BV ve medeni durum arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir (192). Toplumumuzda evli kişiiler eşleriyle cinsel ilişi ki yaşar ve bekarlar ise cinsel ilişi ki yaşamaz düşünce ve davranış şekli yaygındır. Medeni durumun risk faktörü olarak bulunmaması katılımcıların riskli cinsel davranışlarda bulunmamasından veya araştırmanın hastaneye başvuran popülasyonda uygulanmasından kaynaklanıyor olabilir.

BV negatif, BV ara değer ve BV pozitif olma durumuna göre, kişiilerin adet dönemleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur ($p=0.019$). Sekretuar fazda BV pozitifliğinde artış tespit edilmiştir Menstrual siklusun progesteron yüksek sekretuar fazı sırasında, uterusdaki sitotoksik T lenfosit aktivitesi ve doğal öldürücü hücre sitotoksik aktivitesi bastırılırken, doğal bileşenler artar. Meydana gelen immün değişiklikler, cinsel yolla bulaşan enfeksiyonlar için bir güvenlik açığı oluşturur ve bu hastalıkların edinilme riskini de arttırabilir (193,194). Lennard ve arkadaşları, çalışmalarında progesteronun inflamasyon ile ilişi kili olmadığını ve östradiol seviyelerinin ise inflamasyon ile negatif ilişi kili olduğunu tespit etmişlerdir (184).

Çalışmamızda lojistik regresyon analizi ile yapılan risk faktörü incelemesinde gruplar arasında sigara kullanımı risk faktörü olarak bulunmadı ($p>0.05$). Smart ve arkadaşları, sigarayı bağımsız risk faktörü olarak tespit etmişlerdir (195). Manandhar ve arkadaşları, sigara içimi ve BV arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit etmemişlerdir (196). Peters ve arkadaşları, çalışmalarında bakteriyel vajinozis varlığı ile günlük içilen sigara sayısının anlamlı olarak ilişkili olduğunu tespit etmişlerdir (197). Kero ve arkadaşları, ağır sigara içiminin (günde > 20 sigara) BV ile bağlantılı olduğunu tespit etmişlerdir ($p=0.016$) (198). Çalışmamızda BV li sigara içen 7 (%14,9) kişi bulunmaktaydı. 4 kişi günde 1-10 adet, 3 kişi ise günde 11-20 adet sigara içmekteydi. Hastaların hiçbirisi ağır sigara içicisi değildi (>20 adet/gün). Sigaranın risk faktörü olarak bulunmaması BV'li sigara içen kişilerin ağır sigara içicisi olmamasından kaynaklanıyor olabilir.

Araştırmaya katılan kişiler vajinal duş uygulaması yapmıyorlardı. Schwebke ve arkadaşları, adetlerden sonra vajinal duş uygulamasının BV ile güçlü bir ilişkisinin olduğunu tespit etmişlerdir (OR=5.11; %95 güven aralığı, 1.99-13.15) (199). Brotman ve arkadaşları, çalışmalarında 33 üreme çağındaki vajinal duş uygulaması yapan hastanın 4 hafta boyunca bu uygulamaya devam etmesini ve sonrasında 16 hafta boyunca da bu uygulamaya ara vermelerini sağlayarak çalışmalarını gerçekleştirmişlerdir. Çalışmanın sonucunda kadınların vajinal duş uygulamasını en çok adet sonrası yaptığını tespit etmişlerdir. BV'nin vajinal duş uygulaması yapılmadığında önemli ölçüde azaldığını görmüşlerdir (OR=0.23;%95 CI,0.12 ile 0.44) (200). Çalışmamızda, tüm katılımcıların vajinal duş uygulaması yapmaması, sosyokültürel farklılıklardan ve kişisel davranışlardan kaynaklanıyor olabilir. Sonuçta, katılımcıların vajinal duş uygulaması yapmaması, BV için risk faktörü olarak incelenmesine imkan vermemiştir.

BV negatif, BV ara değer ve BV pozitif olma durumuna göre son ilişki zamanı (hastaneye başvurudan önceki 1-3 gün içerisinde, 3-7 gün içerisinde ve 7 günden daha fazla sürede) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur ($p=0,027$). Hastaneye başvurudan önceki 1-3 gün içerisinde cinsel ilişkisi olan kişilerde BV görülme oranı daha fazlaydı (%29,3). Bautista ve arkadaşları,

çalışmalarında literatür taraması yapmışlar ve geçtiğimiz on yıl içindeki çeşitli çalışmalarda, cinsel aktivitenin BV oluşumuna katkıda bulunduğu konusunda kanıtlara ulaşmışlardır. Bununla birlikte, BV'in etyolojik ajanı tanımlanmadan bir CYBH olduğunu belirtmek zordur sonucuna varmışlardır (201). Sidney'de yapılan bir çalışmada BV li 890 hasta ve 890 kontrol grubu karşılaştırılmış ve son 1 yıl içinde en az 3 erkek cinsel partnerin olması (OR=1.60,%95 CI:1.19 ile 2.04) ve son 1 yıl içinde en az bir kadın cinsel partnerin olması (OR=2.1, p=0.003), BV ile bağımsız olarak ilişkilendirilen faktörler olarak tespit edilmiştir (195). BV olmayan 96 kadının, BV gelişimi için 1 yıl prospektif olarak takip edildiği bir çalışmada, önceki ziyaretten bu yana yeni bir partneri olan cinsiyet, BV ile anlamlı bir şekilde ilişkili olarak tespit edilmiştir (OR=1.74; %95 CI;1.05-2.87; P=0.03) (202). Çalışmamızda cinsel partner sayısı sorgulanmaması nedeniyle ilgili verilere ulaşamamıştır.

Çalışmamızda lojistik regresyon analizi ile yapılan risk faktörü incelemesinde gruplar arasında korunma yöntemi risk faktörü olarak bulunmadı (p>0.05). Çalışmamızda RIA kullanan kişiler hasta ve kontrol grubuna dahil edilmedi. Korunma yöntemi olarak %5,8 kişi oral kontraseptif, %31,9 kişi kondom, %62,3 kişi geri çekme yöntemini kullanıyordu.

Sharon ve arkadaşları, vajinal mikrobiyotaya kontrasepsiyon yöntemlerinin etkisini araştırdıkları çalışmalarında kontrasepsiyon yöntemi olarak enjekte edilebilir depo medroksiprogesteron asetat (n=41), noretisteronenantat (n=44) veya medroksiprogesteron asetat ve etinil estradiol (n=40), implant levonorgestrel (n=45) veya etonogestrel (n=48) veya bakır intrauterin cihaz (n=48) kullanmışlardır. Araştırmacılar, tekrarlanan vajinal "swab"ları 30, 90 ve 180 günlük kontrasepsiyon yöntemlerinin sürekli kullanımdan sonra toplamışlardır. Bakteriyel vajinozis prevalansının, bakır intrauterin cihazı kullananlarda başlangıçta %27, 30. günde%35, 90. günde%40 ve 180. günde %49 oranında arttığını tespit etmişlerdir. (P=0.005). Hormonal yöntemleri kullanan kadınlarda 180 gün boyunca bakteriyel vajinozis prevalansında değişiklik olmamıştır. Bakır intrauterin cihaz kullanan kadınlarda

Nugent skorundaki ortalama artışı 1,2 (% 95 CI: 0.5–2.0; P=0.001) olarak tespit etmişlerdir (203).

Vodstrcil ve arkadaşları, 55 makaleyi dahil ettikleri bir meta-analizde, kombine hormonal kontraseptiflerin ve sadece progesteron içeren kontrseptiflerin her ikisinde BV' nin prevalansı ve insidansında azalmayla ilişkili olduğu sonucuna varmışlardır (204). Guédou ve arkadaşları, çalışmalarında tutarlı kondom kullanımının BV nüks riskinde azalmayla ilişkili olduğunu tespit etmişlerdir (205). Schwebke ve arkadaşları, partnerlerin ara sıra prezervatif kullanımının koruyucu olduğunu tespit etmişlerdir (OR=0.80; %95 CI;0.67-0.98; P=0.003) (202). Çalışmamızda, korunma yöntemi kullanan kişilerin kullandıkları yöntemlere göre, BV negatif, BV ara değer ve BV pozitif olma durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamış olsa da prezervatif kullanan kişilerde BV negatifliği diğer gruplara göre daha fazlaydı (%42.9).

Çocuk isteyen 5 kişi ve menapozda olan 47 kişi cinsel ilişkide korunmuyordu. BV negatif, BV ara değer ve BV pozitif olma durumuna göre cinsel ilişkide korunan ve korunmayan kişiler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur (p=0.002). İstatistiksel olarak anlamlı farklılık çalışmamızdaki katılımcıların RIA kullanımının olmaması ve korunma için kullanmayı seçtikleri yöntemlerin BV riskini azaltmaya yönelik yöntemler olmasının bir sonucudur. İlişkide korunanlarda BV negatifliği çok fazla orandadır (%72,9).

Vajinal mikrofloranın bir *Lactobacillus* dominant ortamdan heterojen bir anaerobik ve / veya aerobik bakteri topluluğuna geçişi, sağlık sorunları ile ilişkilidir (206).

Çalışmamızda, *Lactobacillus* tür sayısı ortalaması BV negatif örneklerde 1,4±0,94 (0-3) BV pozitif örneklerde 1,81±0,97 (0-3) olarak tespit edildi. Post hoc incelemeye göre BV pozitif örneklerdeki laktobasil sayısı ortalaması ile BV negatif örneklerindeki laktobasil sayısı ortalaması arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Çoğu çalışma *Lactobacillus* türlerinin BV negatif örneklerde baskın olduğunu tespit

etmiştir (25,72,207). Bulgumuz literatürle uyumlu değildi. BV negatif örneklerde *Lactobacillus* türlerinin baskın bulunmaması çalışmamızda PCR la değerlendirilen *Lactobacillus* tür sayısının sınırlı olmasından kaynaklanmış olabilir.

Çalışmamızda araştırılan (*G.vaginalis*, *Megasphaera*, *BVAB2*, *Leptotrichia/Sneathia*, *Provetella spp.*, *M.mulieris*) tür sayısı ortalaması BV negatif örneklerde $1,36\pm 0,7$ (1-4) , BV ara değer örneklerde $1,46\pm 0,81$ (1-3) ve BV pozitif örneklerde $2,28\pm 1,48$ (1-6) olarak tespit edildi. Post hoc incelemeye göre BV pozitif örneklerde, BV ara değer ve BV negatif örneklere göre tür sayısı ortalaması anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p=0,001$). Çalışmamızda *Lactobacillus* olmayan türlerin bolluğu, BV örneklerinde BV negatif ve BV ara değer örneklerine göre daha yüksek olarak bulundu. BV'li kadınlar, heterojen vajinal bakteri topluluklarına sahipti. Bulgularımız literatürle uyumluydu (25,71,75,185,208)

Çalışmamızda *L.iners*, hem sağlıklı, hem ara değer kadınlarda hem de BV hastalarında yaygın olarak bulunmuştur (sırasıyla %62,50; %50,00; %78,72). *L.iners*, BV pozitif örneklerde, BV ara değer ve BV negatif örneklere göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksekti ($p=0,036$). Çalışmamızda *L.iners* yükü kantitatif olarak değerlendirilmemiştir.

Zozaya ve arkadaşları, *L.iners* bolluğunun BV dahil tüm kategorilerde yüksek olduğunu göstermişlerdir (72). Datcu ve arkadaşları da çalışmalarında katılımcıların tümünde *L.iners*' i tespit etmişlerdir (209). Shipitsyna ve arkadaşları, *L.iners*' i hem sağlıklı kadınlarda hem de BV hastalarında yüksek yüklerde yaygın olarak bulmuşlar ve *L.iners* varlığında bu gruplar arasında *L.iners* DNA yükleri arasında anlamlı fark bulmamışlardır. Bununla birlikte, bakterilerin nispi bolluğunu, BV hastalarında, sağlıklı bireylere kıyasla anlamlı olarak daha düşük tespit etmişlerdir ($P=0.001$) (185).

Çalışmamızda *Megasphaera* ($p=0,036$), *BVAB2* ($p=0,036$), *Provetella spp.* ($p=0,036$) ve *Leptotrichia/Sneathia* ($p=0,036$) dahil olmak üzere dört bakterinin BV ile ilişkili olduğu bulundu. *M.mulieris* istatistiksel olarak anlamlı bulunmasa da

sadece BV pozitif örneklerde tespit edilmesi klinik olarak anlamlıydı. Bulgularımız literatürle benzerdi (1,71,75,185,209).

Janulaitiene ve arkadaşları, *Atopobium vaginae*, *Prevotella G1*, *BVAB2*, *Megasphaera phylotype 1*, *Leptotrichia/Sneathia spp.*, *Eggerthella-like bacteria*'yı BV ile yüksek oranda ilişkili olarak tespit etmişlerdir ($p<0,001$) (75). 50 sağlıklı ve 50 BV li 100 çinli kadınla yapılan bir çalışmada BV ile *Gardnerella*, *Atopobium*, *Megasphaera*, *Eggerthella*, *Aerococcus*, *Leptotrichia / Sneathia*, *Prevotella* ve *Papillibacter* dahil olmak üzere sekiz cins bakterinin ilişkili olduğu bulunmuştur ($p<0,05$) (1). Başka bir çalışmada da, *G.vaginalis*, *A.vaginae*, *Eggerthella*, *Prevotella*, *BVAB2* ve *Megasphaera tip 1*'in, altı bakteriyel türün BV tanısı için potansiyel olarak değerli olduğu gösterilmiştir (185).

Datcu ve arkadaşları, *Atopobium vaginae*, *Sneathia sanguinegens*, *Leptotrichia amnionii*, *BVAB 1*, *BVAB 2*, *BVAB 3*, *BVAB-TM7*, *Megasphaera type 1*, *Megasphaera type 2*, *Eggerthella-like bacterium*, *Mobiluncus curtisii*, *Mobiluncus mulieris*, *Mycoplasma hominis* BV ile anlamlı derecede ilişkili olduğunu bulmuşlardır ($p<0,01$) (209). Fredricks ve arkadaşları, *Leptotrichia / Sneathia*, *Atopobium vaginae*, *Eggerthella-like bacterium*, *Megasphaera* türleri ve *Clostridiales* cinsinden üç bakteriyi, BV ile önemli ölçüde ilişkili olan bakteri türleri olarak tespit etmişlerdir (71).

Mikrobiyal topluluk kompozisyonu; genellikle tek tek bakteriyel türler arasındaki antagonistik ve sinerjik ilişkilerle, bakteriyel etkileşimler tarafından yönlendirilir (207).

Çalışmamızda BV ile ilişkili birkaç bakteri grubu birbirleriyle kuvvetle ilişkiliydi. *Prevotella spp.* - *Megasphaera*, *Prevotella spp.* - *Leptotrichia/Sneathia* ve *Prevotella spp.* - *BVAB2*'nin aynı anda birlikte saptanmaları ileri derecede anlamlıydı ($p=0,000$).

Srinivasan ve arkadaşları, *BVAB1 - Prevotella genogrup 3* ile *BVAB3 - Prevotella genogrup 3*'ün birbirleriyle güçlü bir şekilde ilişkili olduğu tespit etmişlerdir (207). Datcu ve arkadaşları, çalışmalarında *BVAB2* ile *A. vaginae*, *S. sanguinegens*, *L. amnionii*, *BVAB3*, *Megasphaera tip 1* ve *Eggerthella-like bacterium* 'un güçlü korelasyona sahip olduğunu tespit etmişlerdir (209).

G.vaginalis, BV ile güçlü şekilde ilişkilidir ve BV belirtileri olan kadınlarda en çok tespit edilen bakterilerdendir (210). Son zamanlarda yapılan çalışmalar, *G.vaginalis*' in klinik olarak sağlıklı kadınlarda da vajinal mikrobiyotanın bir parçası olabileceğini göstermiştir (211-213).

Çalışmamızda BV negatif kadınların %100'ünde *G.vaginalis* saptandı. Janulaitiene ve arkadaşları, 109 Litvanyalı kadın ile yaptıkları araştırmada BV negatif kadınların %87'sinde *G.vaginalis* saptanmışlardır (75). Balashov ve arkadaşları, *G.vaginalis*' in bakteriyel yükü ve "clade" dağılımını analiz ettiği çalışmasında BV negatif kadınların %97 sinde *G.vaginalis* saptanmışlardır (214). Tüm örneklerde *G.vaginalis* tespit edilmesi PCR ın mikroorganizmaların düşük seviyelerini bile saptamasıyla açıklanabilir. Çalışmamızda *G.vaginalis* yükü kantitatif olarak değerlendirilmemiştir. Bulgularımız literatürde görülen *G.vaginalis* yüzdeleriyle uyumludur (75,214).

G.vaginalis dört farklı "clade" (1-4) ve buna karşılık gelen dört subgruba (A-D) ayrılmıştır (73,74,214,215). Çalışmamızda *G.vaginalis* "clade" 4 en çok saptanan "clade" olarak tespit edildi. Başka çalışmalarda da aynı şekilde "clade" 4 en çok saptanan "clade" olarak bulunmuştur (75,214).

Çalışmamızda farklı kombinasyonlarda çoklu "clade" birlikteliği mevcuttu. Örneklerin %66 sında çoklu "clade" bulundu. Balashov ve arkadaşları, örneklerinin %70 inde çoklu "clade" tespit etmişlerdir (214). Bulgularımız Balashov ve arkadaşlarının bulgularıyla uyumluydu. Bununla beraber çalışmamızda ki çoklu biyotip ve genotiplerin birlikteliği, çoğu çalışmada tespit edilen birliktelikten fazlaydı (216-219).

Çalışmamızda tekli ve çoklu “clade”lerin varlığı ile BV arasında ilişki kurulamamıştır ($p=0,722$). Vodstrcil ve arkadaşları, genç kadınların cinsel aktivitesinin vajinal mikrobiyota ve *G.vaginalis* “clade” çeşitliliğine etkilerini araştırdıkları çalışmada çoklu “clade” varlığının BV ile pozitif bir ilişkiye sahip olduğunu bulmuşlardır (220). Balashov ve arkadaşları da çoklu “clade”lerin BV ile pozitif bir ilişkiye sahip olduğunu ve tekli “clade”lerin ise BV ile negatif ilişkiye sahip olduğunu bulmuşlardır (214). Çalışmamızda ki, BV pozitif örneklerde çoklu “clade”le birliktelik, tekli “clade”le birliktelikten 3 kat fazlaydı.

Çalışmamızda *G.vaginalis* “clade”leri ile BV negatif, BV ara değer ve BV pozitif örnekler arasındaki ilişki incelendiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$). Balashov ve arkadaşları, çalışmalarında “clade” 1 ve “clade” 3 ün BV ile BV ara değerli örneklerinde “clade” 2 ile pozitif ilişkili olduğunu göstermişlerdir (214). Vodstrcil ve arkadaşları, “clade” 4 ile BV arasında pozitif ilişki olduğunu bulmuşlardır ($p=0,009$) (14). Aroutcheva ve arkadaşları, çalışmalarında *G.vaginalis*’ in spesifik bir fenotipi veya genotipi BV'ye neden olmaz sonucuna ulaştılar (216). Tosun ve arkadaşları da çalışmalarında BV hastalarının biyotip dağılımı ile BV negatif olan kişilerin biyotip dağılımı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulmamışlardır ($p= 0.687$) (213). Bulgularımız literatürle uyumluydu (213,216).

Yapılan çalışmalar incelendiğinde, HPV prevalansının geniş bir aralığa sahip olduğu görülmektedir. Ülkeler arasında hatta aynı ülkenin farklı şehirleri arasında bile HPV prevalans oranları büyük farklılıklar gösterebilmektedir. HPV prevalansı, bölgenin sosyal ve kültürel özellikleri, risk faktörlerinin varlığı, HPV tespiti için seçilen yöntemlerin duyarlılığı gibi birçok faktörden etkileniyor olabilir.

Çalışmamızda HPV görülme oranı %9,9 olarak bulunmuştur. HPV 16 %58,33 en sık saptanan HPV tipi olarak tespit edildi. Diğer riskli gruplar %33,33, HPV 18 %8,33 olarak tespit edildi. Bulgularımız literatürle uyumluydu (221-223). Çalışmamızda HPV16 güçlü bir şekilde baskındı (%58.33).

Aziz ve arkadaşları, Pakistan'daki çeşitli ilçelerden gelen serviksini normal sitolojisine sahip 1011 kadın hastanın örneklerinde HPV sıklığını %4.74 olarak bulmuşlardır. Düşük riskli HPV tipi olarak HPV6 (enfekte bireylerin %25'inde), HPV55 (%22.9), HPV11 (%20.8) tespit etmişlerdir. Yüksek riskli HPV tipi olarak ise HPV45 (%12.5), HPV33 (%8.33), HPV18 (%6.25) ve HPV16 (%4.16) tespit etmişlerdir (224).

Morgan ve arkadaşları, Tayland'da 20-37 yaş arası 1256 kadınla yaptıkları çalışmada HPV prevalansını %24,6 olarak bulmuşlardır. En sık görülen tipleri HPV 72, 52, 62 ve 16 olarak tespit etmişlerdir (225). Meng ve arkadaşları, Haziran 2015-Aralık 2015 tarihleri arasında Çin'de 1261 hastayla yaptıkları çalışmada HPV prevalansını %26.01 olarak tespit etmişlerdir (226).

Gultekin ve arkadaşları, Türkiye genelinde bir milyon 30 yaş üstü kadında HPV tarama programını kullanarak yaptıkları değerlendirme de HPV pozitifliğini %3.5 olarak tespit etmişlerdir. Araştırmacılar, en sık rastlanan HPV genotiplerini ise HPV 16, sonra 51, 31, 52 ve 18 olarak tespit etmişlerdir (221).

Kulhan ve arkadaşları, 2014-2016 yılları arasında Erzincan Üniversitesi'nin jinekoloji kliniğine başvuran 11624 kadının HPV genotiplerinin yaygınlığını ve dağılımını değerlendirdikleri çalışmalarında prevalansı %2.79 olarak bulmuşlardır. En yaygın dört yüksek riskli tipi HPV 16, 31, 51 ve 52, sırasıyla %11.25, %7.83, %6.06 ve %3.16 olarak tespit etmişlerdir (222).

Tunç ve arkadaşları, 673 hastada HPV tiplerinin prevalansını ve bazı risk faktörleri ile ilişkisini belirlemeyi amaçladıkları çalışmalarında HPV prevalansını %13.5 olarak bulmuşlardır. Hastaların %5.1'ini HPV tip 16, %1.5'ini HPV tip 18, %0.6'sını HPV tip 31, %0.9'unu HPV tip 53 olarak tespit etmişlerdir (223).

Akali ve arkadaşları, Ocak 2010-Ağustos 2011 tarihleri arasında Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları polikliniğine başvuran 410 kadın hasta ile yaptıkları çalışmada HPV prevalansını %8.5 olarak bulmuşlardır (227).

Dursun ve arkadaşları, Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'na 2004-2008 yılları arasında başvuran 503 kadının retrospektif olarak değerlendirilmesi sonucunda kadınların %23 ünün HPV pozitif olduğunu bulmuşlardır (228).

Çalışmamızda HPV DNA pozitifliğinin %25' lik oranla 30' lu yaşlarda ilk zirvesini yaptığı görüldü. 40' lı yaşlarda ise oranın %16.67' ye düştüğü ve 51 ile 60 yaş arasında %41.67' lik oranla ikinci bir zirve yaptığı görülmüştür. Bulgularımız literatürle uyumludur (222,229,230).

Herrero ve arkadaşları, Kosta Rika'da 9175 kadına yaptıkları çalışmalarında normal sitolojisi olan kadınlar arasında, HPV enfeksiyonlarının 25 yaşından genç kadınlarda zirveye çıktığını ve HPV enfeksiyonlarının 55 yaş ve üstünde, baskın olarak kansere bağlı olmayan HPV tipleri ve karakterize olmayan HPV tipleriyle tekrar zirveye çıktığını tespit etmişlerdir (229).

Lazcano ve arkadaşları, normal servikal sitolojisi olan Meksikalı kadınlar arasında HPV enfeksiyonu epidemiyolojisini araştırdıkları çalışmalarında HPV DNA prevalansının iki zirvesi olduğu tespit etmişlerdir. %16.7 lik oranla ilk zirve 25 yaşın altında tespit edilmiştir. HPV DNA prevalansının 35-44 yaş grubunda %3.7 ye düştüğü görülmüş ve 65 yaş ve üstü kadınlarda %23'e arttığı tespit edilmiştir (230). Kulhan ve arkadaşları, hastalarının büyük çoğunluğunun 3. ve 5. dekatta olduğunu tespit etmişlerdir (222).

Çalışmamızda lojistik regresyon analizi ile yapılan risk faktörü incelemesinde, gruplar arasında medeni durum anlamlı risk faktörü olarak bulunmuştur ($p=0.021$ OR=4.48). Bekar olan kişilerin HPV pozitif olma riski evli olan kişilere göre 4,48 kat daha fazlaydı. Bekarlarda nonpenetratif cinsel temas artmış riskle ilişkili olabilir. Aynı zamanda bekarlarda çok eşliliğin de olabileceği göz önüne alınmalıdır. Ancak bu durum araştırmada sorgulanmamıştır. Bulgumuz literatürle uyumluydu (164).

Lojistik regresyon analizi ile yapılan risk faktörü incelemesinde yaş, cinsel ilişki varlığı, sigara kullanımı, korunma ve korunma yöntemi risk faktörü olarak bulunmadı ($p>0.05$). Literatürde çalışmamızdaki bulgulara benzer çalışmalar vardı (222,227) Bununla beraber birçok araştırmacı, ilk cinsel ilişkide 18 yaşından küçük olmayı, son 12 ay içinde daha fazla sayıda cinsel partnerin olmasını, uzun süreli hormonal kontraseptif kullanımını ve CYBH öyküsü bulunmasını, sigara kullanımını, örgün eğitim eksikliğini, boşanmayı, işsizliği, gelir seviyesinin düşük olmasını risk faktörü olarak tespit etmişlerdir (164,168,225,231).

Çalışmamızda HPV negatif ve HPV pozitif örneklerde *Lactobacillus* türlerinin ortalamaları arasında anlamlı farklılık yoktu ($p=0,23$). *Lactobacillus* türleri hariç tutulduğunda araştırılan bakteri türlerinin ortalamaları arasında da anlamlı farklılık yoktu ($p=0,436$). Bu literatürle uyumlu değildi (232,233). Çalışmamızda gruplar arasında mikrobiyal çeşitlilik açısından istatistiksel anlamlı bir fark bulunmamasının nedeni az sayıda HPV pozitif örneğin analiz edilmesi olabilir.

Gao ve arkadaşları, HPV enfeksiyonunun vajinal mikrobiyota çeşitliliği ve kompozisyonu ile ilişkili olup olmadığını araştırmak için yaptıkları çalışmada normal servikal sitolojisi olan toplam 70 sağlıklı kadını (32 HPV negatif ve 38 HPV pozitif) çalışmaya dahil etmişlerdir. HPV pozitif kadınlarda vajinal mikrobiyotada önemli ölçüde daha fazla biyolojik çeşitlilik saptamışlardır ($p<0.001$). Çalışmalarında *L.gallinarum*, *L.iners* ve *L.gasseri* dahil olmak üzere *Lactobacillus*, baskın cins olup tüm kadınlarda tespit edilmiştir. Çalışmada *L.gallinarum* ($p=0.775$) veya *L.iners* ($p=0.717$) 'in saptanma sıklığı açısından HPV pozitif ve HPV negatif olan kadınlar arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır, ancak HPV pozitif kadınlarda *L.gasseri*, anlamlı olarak daha yüksek bir sıklıkta bulunmuştur ($p=0.005$). *G.vaginalis* de HPV pozitif kadınlarda anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur ($p=0.031$). Çalışmalarının sonucunda iki grubun vajinal mikrobiyotalarının farklı profillere sahip olduğu ortaya çıkmıştır (232).

Lee ve arkadaşları, 68 HPV ile enfekte veya enfekte olmayan kadın ikizlerin ve ailelerinin vajinal mikrobiyotasını araştırmışlardır. Hem premenopozal kadınlarda

hem de HPV uyumsuz ikizlerde vajinal mikrobiyotanın analizi, HPV pozitif kadınların anlamlı olarak daha yüksek mikrobiyal çeşitliliğe sahip olduğunu ve daha düşük oranda *Lactobacillus* spp. içerdiğini göstermişlerdir. Bu çalışmada *Sneathia* spp. dahil olmak üzere fusobakterilerin, HPV enfeksiyonu ile ilişkili olası bir mikrobiyolojik belirteç olduğu tanımlanmıştır. Bu çalışma da, HPV enfeksiyonunun, genetik ve menopoz gibi çoklu konak faktörlerinden etkilenen vajinal mikrobiyota bileşimi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (233).

Çalışmamızda PCR ile belirlenen bakterilerle HPV pozitifliği arasındaki ilişki değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi. Bu literatürle uyumlu değildi (232,233).

Çalışmamızda HPV pozitifliği ve negatifliği ile BV negatif, BV ara değer ve BV pozitif gruplar arasındaki ilişki değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p=0,525$). Bulgularımız literatürle uyumluydu (197). İstatistiksel olarak anlamlı fark bulunmasa da, BV negatif (%93) grupta HPV'nin negatifliği, BV ara değer (%88,5) ve BV pozitif (%87,2) gruptan daha fazla olarak bulunmuştur.

BV ve HPV enfeksiyonu arasındaki ilişki, bazı çalışmalarda pozitif ilişkili, bazı çalışmalarda ise aralarında ilişki olmadığı şeklinde sonuçlanmıştır (3,197,226).

Meng ve arkadaşları, çalışmalarında BV'i olan 142 olgunun 54'ünün HPV ile enfekte olduğunu (%38), 296 ara değer hastanın 88' nin HPV ile enfekte olduğunu (%29.7), 231 normal vajinal floraya sahip olgunun 51'inin HPV ile enfekte olduğunu (%22.1) tespit etmişlerdir. Çalışmada BV ve ara değer hastalarda HPV enfeksiyonu oranını normal hastalardan anlamlı derecede yüksek bulmuşlardır ($p<0.05$). Araştırmacılar BV ve ara değer hastaların, özellikle yüksek riskli HPV enfeksiyonu ile pozitif ilişkili olduğunu bildirmişlerdir (226).

Peters ve arkadaşları, 280 kadınla yaptıkları çalışmalarında BV prevalansını %20 olarak saptanmışlardır. Bakteriyel vajinozis varlığı ile insan papillomavirüs enfeksiyonu arasında ilişki olmadığını tespit etmişlerdir (197).

Çalışmalar arasında tutarsızlığı değerlendirmek için Gillet ve arkadaşları, BV ve HPV enfeksiyonu arasındaki ilişkiyi araştırdıkları meta-analiz çalışmalarında, 6372 kadının dahil olduğu on iki çalışmayı değerlendirmişlerdir. Meta-analizde BV'nin havuzlanmış prevalansını %32 olarak bulmuşlardır. BV ile servikal HPV enfeksiyonu arasında pozitif bir ilişki olduğunu göstermişlerdir (OR=1.43;%95 güven aralığı, 1.11-1.84) (3).

Çalışma; vajinal mikrobiyotanın bakteriyel vajinozis ve Human papillomavirus ile ilişkisinin araştırılması amacıyla planlandı. Çalışmada BV grubunda bakteri çeşitliliği daha fazlaydı. *Megasphaera* (p=0,036), *BVAB2* (p=0,036), *Provetella spp.* (p=0,036) ve *Leptotrichia/Sneathia* (p=0,036) dahil olmak üzere dört bakterinin BV ile ilişkili olduğu bulundu. Araştırılan bakterilerle HPV pozitifliği arasındaki ilişki değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi. Bunun çalışmadaki HPV pozitif (n=12) ve negatif kişi (n=109) sayıları arasındaki farklılıktan ve çalışılan bakterilerin yükünün kantitatif olarak değerlendirilmemiş olmasından kaynaklanmış olabileceğini düşünmekteyiz.

SONUÇLAR

1. Kadın hastalıkları ve doğum polikliniğine başvuran 121 kadın bakteriyel vajinozis, HPV ve vajinal mikrobiyota açısından değerlendirildi. Katılımcıların arasından rastgele seçilen 50 kişi de ise *G.vaginalis* subtipleri değerlendirildi.
2. Nugent skoruna göre değerlendirilen katılımcılar BV negatif %39,7 (n=48), BV ara değer %21 (n=26), BV pozitif %38,8 (n=47) olarak tespit edildi. BV görülme oranı %38,8 olarak bulundu. BV pozitifliği en fazla 3. ve 4. dekatta görüldü.
3. BV negatif, BV ara değer ve BV pozitif olma durumuna göre, kişilerin adet dönemleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu (p=0.019). Sekratuar fazda BV pozitifliğinde artış tespit edildi.
4. BV negatif, BV ara değer ve BV pozitif olma durumuna göre son ilişki zamanı (hastaneye başvurudan önceki 1-3 gün içerisinde, 3-7 gün içerisinde ve 7 günden daha fazla sürede) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu (p=0,027). Hastaneye başvurudan önceki 1-3 gün içerisinde cinsel ilişkisi olan kişilerde BV görülme oranı daha fazlaydı (%29,3).
5. Çocuk isteyen 5 kişi ve menapozda olan 47 kişi cinsel ilişkide korunmuyordu. BV negatif, BV ara değer ve BV pozitif olma durumuna göre cinsel ilişkide korunan ve korunmayan kişiler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu (p=0.002). İlişkide korunanlarda BV negatifliği çok fazla orandaydı (%72,9).
6. Korunma yöntemi kullanan kişilerin kullandıkları yöntemlere göre, BV negatif, BV ara değer ve BV pozitif olma durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmasa da prezervatif kullanan kişilerde BV negatifliği diğer gruplara göre daha fazlaydı (%42.9). BV'den korunmak için korunma yöntemi olarak prezervatif kullanımının yararlı olacağını düşünmekteyiz.

7. *Lactobacillus* türleri hariç tutulduğunda (*G.vaginalis*, *Megasphaera*, *BVAB2*, *Leptotrichia/Sneathia*, *Provetella spp.*, *M.mulieris*) araştırılan tür sayısı ortalaması BV negatif örneklerde $1,36 \pm 0,7$ (1-4) , BV ara değer örneklerde $1,46 \pm 0,81$ (1-3) ve BV pozitif örneklerde $2,28 \pm 1,48$ (1-6) olarak tespit edildi. Post hoc incelemeye göre BV pozitif örneklerde, BV ara değer ve BV negatif örneklere göre tür sayısı ortalaması anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p=0,001$).
8. *L.iners*, hem sağlıklı, hem ara değer kadınlarda hem de BV hastalarında yaygın olarak bulundu (sırasıyla %62,50; %50,00; %78,72) *L.iners*, BV pozitif örneklerde, BV ara değer ve BV negatif örneklere göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksekti ($p=0,036$). *L.iners* yükü kantitatif olarak değerlendirilmedi.
9. *Megasphaera* ($p=0,036$), *BVAB2* ($p=0,036$), *Provetella spp.* ($p=0,036$) ve *Leptotrichia/Sneathia* ($p=0,036$) dahil olmak üzere dört bakterinin BV ile ilişkili olduğu bulundu.
10. BV ile ilişkili birkaç bakteri grubu birbirleriyle kuvvetle ilişkiliydi. *Provetella spp.* - *Megasphaera*, *Provetella spp.* - *Leptotrichia/Sneathia* ve *Provetella spp.* - *BVAB2*'nin aynı anda birlikte saptanmaları ileri derecede anlamlıydı ($p<0.001$).
11. *G.vaginalis* subtipleri çalışılan. 50 kişinin 18 i (%36) BV negatif, 20 si (%40) BV ara değer, 12 si (%24) BV pozitif. En yaygın "clade" 4 suşu izole edildi.
12. "Clade"lerin BV negatif, BV ara değer, BV pozitif örneklerde tekli ve çoklu bulunması arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. İstatistiksel olarak anlamlı bulunmasa da ($p>0,05$), BV pozitif örneklerde çoklu "clade"le birliktelik, tekli "clade"le birliktelikten 3 kat fazlaydı.

13. *G.vaginalis* subtiplerinin BV negatif, BV ara değer ve BV pozitif örnekler ile ilişkisi incelendiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığın bulunmadığı görüldü.
14. Çalışmamızda HPV görülme oranı %9,9 olarak bulunmuştur. En fazla HPV pozitifliği 3. ve 5. dekatta görüldü. HPV 16 %58,33 (n=7) en sık saptanan HPV tipi olarak tespit edildi. Diğer riskli gruplar %33,33 (n=4), HPV 18 %8,33 (n=1) olarak tespit edildi.
15. Gruplar arasında medeni durum anlamlı risk faktörü olarak bulundu (p=0.021 OR=4.48). Bekar olan kişilerin HPV pozitif olma riski evli olan kişilere göre 4,48 kat daha fazlaydı.
16. PCR ile belirlenen tür sayılarının ortalamalarının HPV pozitifliğine negatifliği arasındaki ilişki değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi.
17. PCR ile belirlenen türler ile HPV pozitifliği arasındaki ilişki değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi.
18. HPV pozitifliği ve negatifliği ile BV negatif, BV ara değer ve BV pozitif gruplar arasındaki ilişki değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (p=0,525). İstatistiksel olarak anlamlı fark bulunmasa da, BV negatif (%93) grupta HPV'nin negatifliği, BV ara değer (%88,5) ve BV pozitif (%87,2) gruptan daha fazla olarak bulunmuştur.

Vajinal mikroorganizmalar, bakteriyel vajinozis ve HPV çalışması için anket formu

1.Ad-Soyad

2.Yaşınız

3.Medeni haliniz A) Evli B) Bekar C) Boşanmış / Ayrı yaşıyor D) Dul

4.Çocuğunuz var mı ? A)Evet B) Hayır

5.Sigara kullanma durumunuz A)Evet B) Hayır C)Bıaktım (ne zaman bıraktınız)

Cevabınız evet ise;

6.Günde kaç tane içiyorsunuz?

7.Kaç yıldır içiyorsunuz?

8.Son adet tarihiniz

9.Kaç günde bir adet olursunuz?

10.Vajinal duş uygulaması ve vajinal duş jeli ile temizlik yapar mısınız ?

A) Evet B) Hayır

11.Eşinizle son ilişki tarihiniz A) 1-3 gün önce B) 3-7 gün önce C) 7 günden fazla

12.Son bir ay içinde ilaç kullandınız mı ? Cevabınız evet ise ;

Kullandığınız ilaçları yazınız

13.Şu an RİA kullanıyor musunuz ? A) Evet B) Hayır

14.Korunma yöntemlerinden hangisini kullanıyorsunuz ?

A) Kondom B) Takvim C) Doğum kontrol hapı D) Diğer

Doğum kontrol hapı kullanıyorsanız; adını yazınız.....

KAYNAKLAR

1. Ling Z, Kong J, Liu F, Zhu H, Chen X, Wang Y, et al. Molecular analysis of the diversity of vaginal microbiota associated with bacterial vaginosis. *BMC Genomics*. 2010;11:488.
2. Zhou X, Hansmann MA, Davis CC, Suzuki H, Brown CJ, Schütte U, et al. The vaginal bacterial communities of Japanese women resemble those of women in other racial groups. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2010;58:169–81.
3. Gillet E, Meys JF, Verstraelen H, Boisire C, De Sutter P, Temmerman M, et al. Bacterial vaginosis is associated with uterine cervical human papillomavirus infection: a meta-analysis. *BMC Infect Dis*. 2011;11:10.
4. Schlecht NF, Kulaga S, Robitaille J, et al. Persistent human papillomavirus infection as a predictor of cervical intraepithelial neoplasia. *JAMA*. 2001;286:3106–14.
5. Martin DH. The microbiota of the vagina and its influence on women's health and disease. *Am J Med Sci*. 2012;343:2–9.
6. Boris S, Barbés C. Role played by lactobacilli in controlling the population of vaginal pathogens. *Microbes Infect*. 2000;2:543–6.
7. Xu Z, Knight R. Dietary effects on human gut microbiome diversity. *Br J Nutr*. 2015; 113:1–5.
8. Tuğ A, Hancı İH, Balseven A. İnsan genom projesi: Umut mu, kabus mu? *Sürekli Tıp Eğitimi Dergisi* 2002;11: 56–7.
9. Cénit MC, Matzaraki V, Tigchelaar EF, Zhernakova A. Rapidly expanding knowledge on the role of the gut microbiome in health and disease. *Biochim Biophys Acta*. 2014;1842:1981–92.
10. Whitman WB, Coleman DC, Wiebe WJ. Prokaryotes: the unseen majority. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1998;95:6578–83.

11. Yıldırım AE, Altun R. Obezite ve mikrobiyota. *Güncel Gastroenterol Derg* 2014;18:1061–11.
12. Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, Magrini V, Mardis ER, Gordon JI: An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature*. 2006; 444:1027–31.
13. Mitra A, MacIntyre DA, Marchesi JR, Lee YS, Bennett PR, Kyrgiou M. The vaginal microbiota, human papillomavirus infection and cervical intraepithelial neoplasia: what do we know and where are we going next? *Microbiome*. 2016;4:58.
14. Karakan T. Erişkinlerde mikrobiyota. 8. Ulusal Moleküler ve Tanısal Mikrobiyoloji Kongresi, 4-7 Haziran 2014 Ankara. Kongre kitabı sayfa 18.
15. Ravel J, Gajer P, Abdo Z, Schneider GM, Koenig SSK, McCulle SL, Karlebach S, Gorle R, Russell J, Tacket CO, Brotman RM, Davis CC, Ault K, Peralta L & Forney LJ. Vaginal microbiome of reproductive-age women. *Proc Natl Acad Sci USA* 108 (Suppl 1). 2011; 4680–87.
16. Santiago G.L. et al. Longitudinal qPCR study of the Dynamics of *L. crispatus*, *L. iners*, *A. vaginae*, (sialidase positive) *G.vaginalis*, and *P. bivia* in the vagina. *PLoS One*. 2012;7:e45281.
17. Rosenstein IJ, Morgan DJ, Sheehan M, Lamont RF, Taylor-Robinson D. Bacterial vaginosis in pregnancy: distribution of bacterial species in different gram-stain categories of the vaginal flora. *J Med Microbiol*. 1996;45:120–6.
18. Smith SB, Ravel J. The vaginal microbiota, host defence and reproductive physiology. *J Physiol*. 2017;595:451–63.
19. Farage M, Maibach H. Lifetime changes in the vulvaand vagina. *Arch Gynecol Obstet*. 2005;273:195–202.
20. van de Wijkert JH, Borgdorff H, Verhelst R, Crucitti T, Francis S, Verstraelen H, et al. The vaginal microbiota: what have we learned after a decade of molecular characterization? *PLoS One*. 2014;9:e105998.

21. Antonio MA, Hawes SE, Hillier SL. The identification of vaginal *Lactobacillus* species and the demographic and microbiologic characteristics of women colonized by these species. *J Infect Dis.* 1999;180:1950–56.
22. Boskey ER, Cone RA, Whaley KJ, Moench TR. Origins of vaginal acidity: high D/L lactate ratio is consistent with bacteria being the primary source. *Hum Reprod.* 2001;16:1809–13.
23. Redondo-Lopez V, Cook RL, Sobel JD. Emerging role of lactobacilli in the control and maintenance of the vaginal bacterial microflora. *Rev Infect Dis.* 1990;12: 856–872.
24. Zhou X, Brown CJ, Abdo Z, Davis CC, Hansmann MA, Joyce P, et al. Differences in the composition of vaginal microbial communities found in healthy Caucasian and black women. *ISME J.* 2007;1:121–33.
25. Fredricks DN, Fiedler TL, Marrazzo JM. Molecular identification of bacteria associated with bacterial vaginosis. *N Engl J Med.* 2005;353:1899–11.
26. Gajer P, Brotman RM, Bai G, Sakamoto J, Schütte UME, Zhong X, et al. Temporal dynamics of the human vaginal microbiota. *Sci Transl Med.* 2012;4:132ra52.
27. Campos ACC, Freitas-Junior R, Ribeiro LFJ, Paulinelli RR, Reis C. Prevalence of vulvovaginitis and bacterial vaginosis in patients with koilocytosis. *Sao Paulo Med J.* 2008;126:333–6.
28. Alakomi H-L, Skytta E, Saarela M, Mattila-Sandholm T, Latva-Kala K, Helander IM. Lactic acid permeabilizes gram-negative bacteria by disrupting the outer membrane. *Appl Environ Microbiol.* 2000;66:2001–5.
29. O'Hanlon DE, Moench TR, Cone RA. Vaginal pH and microbicidal lactic acid when lactobacilli dominate the microbiota. *PLoS One.* 2013;8:e80074.
30. O'Hanlon DE, Moench TR, Cone RA. In vaginal fluid, bacteria associated with bacterial vaginosis can be suppressed with lactic acid but not hydrogen peroxide. *BMC Infect Dis.* 2011;11:200.
31. Mendes-Soares H, Suzuki H, Hickey RJ, Forney LJ. Comparative functional genomics of *Lactobacillus* spp. reveals possible mechanisms for specialization of vaginal lactobacilli to their environment. *J Bacteriol.* 2014;196:1458–70.

32. Ojala T, Kankainen M, Castro J, Cerca N, Edelman S, Westerlund-Wikstrom B, et al. Comparative genomics of *Lactobacillus crispatus* suggests novel mechanisms for the competitive exclusion of *Gardnerella vaginalis*. BMC Genom. 2014;15:1070.
33. Hou D, Zhou X, Zhong X, Settles ML, Herring J, Wang L, et al. Microbiota of the seminal fluid from healthy and infertile men. Fertil Steril. 2013;100:1261–9.
34. Witkin SS, Linhares IM. Why do lactobacilli dominate the human vaginal microbiota? BJOG. 2017;124:606–11.
35. Faro S. Vajinit Ayırıcı Tanı ve Tedavi. Çev. Ed. Oral E, İstanbul, Nobel Tıp Kitapevleri 2006:13–35.
36. Eryılmaz TF. Vajinal sekresyondan izole edilen laktik asit bakterilerine ait bazı suşların potansiyel probiyotik özelliklerin belirlenmesi. Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü, Ankara: 2011.
37. Corton MM, Leveno K, Bloom S, Hauth J, Rouse D, Spong C. Vagina and Perineum. Obstetrics Williams, 23.th edition. 2009:111.
38. Kumar V, Abbas AK, Aster JC. Vagina. Robbins Basic Pathology 2013:684.
39. Gorodeski GI, Hopfer U, Liu CC, Margles E. Estrogen acidifies vaginal pH by up-regulation of proton secretion via the apical membrane of vaginal-ectocervical epithelial cells. Endocrinology. 2005;146:816–24.
40. Eschenbach DA, Davick PR, Williams BL, Klebanoff SJ, Young-Smith K, Critchlow CM, et al. Prevalence of hydrogen peroxide-producing *Lactobacillus* species in normal women and women with bacterial vaginosis. J Clin Microbiol. 1989; 27:251–6.
41. Eschenbach DA. Bacterial vaginosis and anaerobes in obstetric-gynecologic infection. Clin Infect Dis. 1993;16(Suppl 4):S282–7.
42. Spiegel CA. Bacterial vaginosis. Rev Med Microbiol. 2002;13:43–51.

43. Verstraelen H, Verhelst R, Claeys G, Temmerman M, Vaneechoutte M. Culture-independent analysis of vaginal microflora: the unrecognized association of *Atopobium vaginae* with bacterial vaginosis. *Am J Obstet Gynecol.* 2004; 191:1130–2.
44. Zozaya-Hinchliffe M, Martin DH, Ferris MJ. Prevalence and abundance of uncultivated Megasphaera-like bacteria in the human vaginal environment. *Appl Environ Microbiol.* 2008;74:1656–9.
45. Schwebke JR. New concepts in the etiology of bacterial vaginosis. *Curr Infect Dis Rep.* 2009;11:143–7.
46. Wang J. Bacterial vaginosis. *Prim Care Update Ob Gyns.* 2000;7:181–5.
47. Sweet RL. Role of bacterial vaginosis in pelvic inflammatory disease. *Clin Infect Dis.* 1995;20(Suppl 2):S271–5.
48. Haggerty CL, Hillier SL, Bass DC, Ness RB. Bacterial vaginosis and anaerobic bacteria are associated with endometritis. *Clin Infect Dis.* 2004;39:990–5.
49. Chernes TL, Meyn LA, Krohn MA, Lurie JG, Hillier SL. Association between acquisition of herpes simplex virus type 2 in women and bacterial vaginosis. *Clin Infect Dis.* 2003;37:319–5.
50. Wiesenfeld HC, Hillier SL, Krohn MA, Landers DV, Sweet RL. Bacterial vaginosis is a strong predictor of *Neisseria gonorrhoeae* and *Chlamydia trachomatis* infection. *Clin Infect Dis.* 2003;36:663–8.
51. Kaul R, Nagelkerke NJ, Kimani J, Ngugi E, Bwayo JJ, Macdonald KS, et al. Prevalent herpes simplex virus type 2 infection is associated with altered vaginal flora and an increased susceptibility to multiple sexually transmitted infections. *J Infect Dis.* 2007;196:1692–77.
52. Watts DH, Fazzari M, Minkoff H, Hillier SL, Sha B, Glesby M, et al. Effects of bacterial vaginosis and other genital infections on the natural history of human papillomavirus infection in HIV-1-infected and high-risk HIV-1-uninfected women. *J Infect Dis.* 2005;191:1129–39.
53. Gravett MG, Hummel D, Eschenbach DA, Holmes KK. Preterm labor associated with subclinical amniotic fluid infection and with bacterial vaginosis. *Obstet Gynecol.* 1986;67:229–37.

54. Hillier SL, Martius J, Krohn M, Kiviat N, Holmes KK, Eschenbach DA. A case-control study of chorioamnionic infection and histologic chorioamnionitis in prematurity. *N Engl J Med.* 1988;319:972–8.
55. van Oostrum N, De Sutter P, Meys J, Verstraelen H. Risks associated with bacterial vaginosis in infertility patients: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod* 2013;28:1809–15.
56. Klebanoff MA, Schwebke JR, Zhang J, Nansel TR, Yu KF, Andrews WW. Vulvovaginal symptoms in women with bacterial vaginosis. *Obstet Gynecol.* 2004;104:267–72.
57. Donders G. Diagnosis and management of bacterial vaginosis and other types of abnormal vaginal bacterial flora: a review. *Obstet Gynecol Surv.* 2010;65:462–473.
58. Petrova MI, Lievens E, Malik S, Imholz N, Lebeer S. *Lactobacillus* species as biomarkers and agents that can promote various aspects of vaginal health. *Front Physiol.* 2015;6:81.
59. Petrova MI, van den Broek M, Balzarini J, Vanderleyden J, Lebeer S. Vaginal microbiota and its role in HIV transmission and infection. *FEMS Microbiol Rev.* 2013;37:762–92.
60. Menon R, Pearce B, Velez DR, Merialdi M, Williams SM, Fortunato SJ, et al. Racial disparity in pathophysiologic pathways of preterm birth based on genetic variants. *Reprod Biol Endocrinol.* 2009 Jun 15;7:62.
61. Jaffe S, Normand N, Jayaram A, Orfanelli T, Doulavereis G, Passos M, et al. Unique variation in genetic selection among Black North American women and its potential influence on pregnancy outcome. *Med Hypotheses.* 2013;81:919–22.
62. Verstraelen H, Swidsinski A. The biofilm in bacterial vaginosis: implications for epidemiology, diagnosis and treatment. *Curr Opin Infect Dis.* 2013;26:86–9.
63. Hardy L, Jaspers V, Abdellati S, De Baetselier I, Mwambarangwe L, Musengamana V, et al. A fruitful alliance: the synergy between *Atopobium*

vaginae and *Gardnerella vaginalis* in bacterial vaginosis-associated biofilm. *Sex Transm Infect.* 2016;92:487–91.

64. Petrova MI, Reid G, Vaneechoutte M, Lebeer S. *Lactobacillus iners*: Friend or Foe? *Trends Microbiol.* 2017;25:182–91.
65. Nunn K, Wang Y-Y, Harit D, Cone R, Lai S. Influence of vaginal microbiota on the diffusional barrier properties of cervicovaginal mucus. *AIDS Research and Human Retroviruses.* 2014, 30(S1):A234.
66. Arnold K, Birse K, Mckinnon L, Lingappa J, Novak R, Westmacott G, Ball TB, Lauffenburger D, Burgener A. Mucosal integrity factors are perturbed during bacterial vaginosis: a proteomic analysis. *AIDS Research and Human Retroviruses.* 2014;30(S1):A30.
67. Lewis WG1, Robinson LS, Perry J, Bick JL, Peipert JF, Allsworth JE, Lewis AL. Hydrolysis of secreted sialoglycoprotein immunoglobulin A (IgA) in ex vivo and biochemical models of bacterial vaginosis. *J Biol Chem.* 2012;287:2079–89.
68. Lewis WG1, Robinson LS, Gilbert NM, Perry JC, Lewis AL. Degradation, foraging, and depletion of mucus sialoglycans by the vagina-adapted *Actinobacterium Gardnerella vaginalis*. *J Biol Chem.* 2013;288:12067–79.
69. Gelber SE, Aguilar JL, Lewis KL, Ratner AJ. Functional and phylogenetic characterization of Vaginolysin, the human-specific cytolysin from *Gardnerella vaginalis*. *J Bacteriol.* 2008;190:3896–903.
70. Zilnyte M, Venclovas Č, Zvirbliene A, Pleckaityte M. The cytolytic activity of vaginolysin strictly depends on cholesterol and is potentiated by human CD59. *Toxins (Basel).* 2015;7:110–28.
71. Fredricks DN, Fiedler TL, Thomas K, Oakley BB, Marrazzo JM. Targeted PCR for detection of vaginal bacteria associated with bacterial vaginosis. *J Clin Microbiol.* 2007;45:3270–76.
72. Zozaya-Hinchliffe M, Lillis R, Martin DH, Ferris MJ. Quantitative PCR assessments of bacterial species in women with and without bacterial vaginosis. *J Clin Microbiol.* 2010;48:1812–19.

73. Ahmed A, Earl J, Retchless A, Hillier SL, Rabe LK, Cherpes TL, et al. Comparative genomic analyses of 17 clinical isolates of *Gardnerella vaginalis* provide evidence of multiple genetically isolated clades consistent with subspeciation into genovars. *J Bacteriol.* 2012;194:3922–37.
74. Schellenberg JJ, Paramel Jayaprakash T, Withana Gamage N, Patterson MH, Vaneechoutte M, et al. *Gardnerella vaginalis* subgroups defined by cpn60 sequencing and sialidase activity in isolates from Canada, Belgium and Kenya. *PLoS One.* 2016;11:e0146510.
75. Janulaitiene M, Paliulyte V, Grinceviciene S, Zakareviciene J, Vladisauskiene A, Marcinkute A, et al. Prevalence and distribution of *Gardnerella vaginalis* subgroups in women with and without bacterial vaginosis. *BMC Infect Dis.* 2017;17:394.
76. Hainer BL, Gibson MV. Vaginitis. *Am Fam Physician.* 2011;83:807–15.
77. Allsworth JE, Peipert JF. Prevalence of bacterial vaginosis: 2001-2004 National Health and Nutrition Examination Survey data. *Obstet Gynecol.* 2007;109:114–20.
78. Goldenberg RL, Klebanoff MA, Nugent R, et al. Bacterial colonization of the vagina during pregnancy in four ethnic groups. *Am J Obstet Gynecol.* 1996;174:1618–21.
79. Mason MR, Preshaw PM, Nagaraja HN, Dabdoub SM, Rahman A, Kumar PS. The subgingival microbiome of clinically healthy current and never smokers. *ISME J.* 2015;9:268–72.
80. Brotman RM, He X, Gajer P, Fadrosh D, Sharma E, Mongodin EF, et al. Association between cigarette smoking and the vaginal microbiota: a pilot study. *BMC Infect Dis.* 2014;14:471.
81. Martino JL, Vermund SH. Vaginal douching: Evidence for risks or benefits to women's health. *Epidemiol Rev.* 2002;24:109–24.
82. Yen S, Shafer MA, Moncada J, Campbell CJ, Flinn SD, Boyer CB. Bacterial vaginosis in sexually experienced and non-sexually experienced young women entering the military. *Obstet Gynecol.* 2003;102:927.

83. Fethers KA, Fairley CK, Morton A, Hocking JS, Hopkins C, Kennedy LJ, et al. Early sexual experiences and risk factors for bacterial vaginosis. *J Infect Dis.* 2009;200:1662–70.
84. Nelson DE, Van Der Pol B, Dong Q, Revanna KV, Fan B, Easwaran S, et al. Characteristic male urine microbiomes associate with asymptomatic sexually transmitted infection. *PLoS One.* 2010;5:e14116.
85. Fethers KA, Fairley CK, Hocking JS, Gurrin LC, Bradshaw CS. Sexual risk factors and bacterial vaginosis: a systematic review and meta-analysis. *Clin Infect Dis.* 2008;47:1426–35.
86. Nelson DE, Dong Q, Van der Pol B, Toh E, Fan B, Katz BP, et al. Bacterial communities of the coronal sulcus and distal urethra of adolescent males. *PLoS One.* 2012;7:e36298.
87. Esber A, Vicetti Miguel RD, Cherpes TL, Klebanoff MA, Gallo MF, Turner AN. Risk of bacterial vaginosis among women with herpes simplex virus type 2 infection: A systematic review and meta-analysis. *J Infect Dis.* 2015;212:8–17.
88. Jamieson DJ, Duerr A, Klein RS, et al. Longitudinal analysis of bacterial vaginosis: findings from the HIV epidemiology research study. *Obstet Gynecol.* 2001;98:656–63.
89. Myer L, Denny L, Telerant R, et al. Bacterial vaginosis and susceptibility to HIV infection in South African women: A nested case-control study. *J Infect Dis.* 2005;192:1372–80.
90. Yarbrough VL, Winkle S, Herbst-Kralovetz MM. Antimicrobial peptides in the female reproductive tract: a critical component of the mucosal immune barrier with physiological and clinical implications. *Hum Reprod Update.* 2015;21:353–77.
91. Diaz-Ochoa VE, Jellbauer S, Klaus S, Raffatellu M. Transition metal ions at the crossroads of mucosal immunity and microbial pathogenesis. *Front Cell Infect Microbiol.* 2014;4:2.

92. Jarosik GP, Land CB, Duhon P, Chandler R Jr, Mercer T. Acquisition of iron by *Gardnerella vaginalis*. *Infect Immun*. 1998;66:5041–7.
93. Imbert M, Blondeau R. On the iron requirement of lactobacilli grown in chemically defined medium. *Curr Microbiol*. 1998;37:64–6.
94. Rein MF, Shih LM, Miller JR, Guerrant RL. Use of a lactoferrin assay in the differential diagnosis of female genital tract infections and implications for the pathophysiology of bacterial vaginosis. *Sex Transm Dis*. 1996;23:517–21.
95. Nasioudis D, Witkin SS. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin and innate immune responses to bacterial infections. *Med Microbiol Immunol*. 2015;204:471–9.
96. Beghini J, Giraldo PC, Linhares IM, Ledger WJ, Witkin SS. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin concentration in vaginal fluid: Relation to bacterial vaginosis and vulvovaginal candidiasis. *Reprod Sci*. 2015;22:964–8.
97. Nasioudis D, Linhares IM, Ledger WJ, Witkin SS. Bacterial vaginosis: a critical analysis of current knowledge. *BJOG*. 2017;124:61–69.
98. Amsel R, Totten PA, Spiegel CA, Chen KC, Eschenbach D, Holmes KK. Nonspecific vaginitis. Diagnostic criteria and microbial and epidemiologic associations. *Am J Med*. 1983;74:14–22.
99. Sobel JD. Vaginal infections in adult women. *Med Clin North Am*. 1990;74:1573–602.
100. Spiegel CA. Bacterial vaginosis. *Clin Microbiol Rev*. 1991;4:485–502.
101. Eschenbach DA, Hillier S, Critchlow C, Stevens C, DeRouen T, Holmes KK. Diagnosis and clinical manifestations of bacterial vaginosis. *Am J Obstet Gynecol*. 1988;158:819–28.

102. Landers DV, Wiesenfeld HC, Heine RP, Krohn MA, Hillier SL. Predictive value of the clinical diagnosis of lower genital tract infection in women. *Am J Obstet Gynecol.* 2004;190:1004–10.
103. Sweet RL, Gibbs RS. *Atlas of Infectious Diseases of the Female Genital Tract.* Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2005.
104. Fleisher GR, MD, Ludwig S, MD, Baskin MN, MD. *Atlas of Pediatric Emergency Medicine.* Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2004.
105. Nugent RP, Krohn MA, Hillier SL. Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of gram stain interpretation. *J Clin Microbiol.* 1991;29:297–301.
106. Schwebke JR, Hillier SL, Sobel JD, McGregor JA, Sweet RL. Validity of the vaginal gram stain for the diagnosis of bacterial vaginosis. *Obstet Gynecol.* 1996;88:573–6.
107. Gratacós E, Figueras F, Barranco M, Ros R, Andreu A, Alonso PL, et al. Prevalence of bacterial vaginosis and correlation of clinical to Gram stain diagnostic criteria in low risk pregnant women. *Eur J Epidemiol.* 1999;15:913–6.
108. Ison CA, Hay PE. Validation of a simplified grading of Gram stained vaginal smears for use in genitourinary medicine clinics. *Sex Transm Infect.* 2002;78:413-5.
109. Wiesenfeld HC, Hillier SL, Krohn MA, Landers DV, Sweet RL. Bacterial vaginosis is a strong predictor of *Neisseria gonorrhoeae* and *Chlamydia trachomatis* infection. *Clin Infect Dis.* 2003;36:663–8.
110. Taylor BD, Darville T, Haggerty CL. Does bacterial vaginosis cause pelvic inflammatory disease? *Sex Transm Dis.* 2013;40:117–22.
111. Greene JF, Kuehl TJ, Allen SR. The papanicolaou smear: inadequate screening test for bacterial vaginosis during pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 2000;182:1048–9.
112. Diop K, Bretelle F, Fournier PE, Fenollar F. '*Anaerococcus mediterraneensis*' *sp. nov.* a new species isolated from human female genital tract. *New Microbes New Infect.* 2017;17:75–6.

113. Diop K, Bretelle F, Michelle C, Richez M, Rathored J, Raoult D, et al. Taxonogenomics and description of *Vaginella massiliensis* gen. nov. sp. nov. strain Marseille P2517^T a new bacterial genus isolated from the human vagina. *New Microbes New Infect.* 2017;15:94–103.
114. Swidsinski A, Mendling W, Loening-Baucke V, Ladhoff A, Swidsinski S, Hale LP, et al. Adherent biofilms in bacterial vaginosis. *Obstet Gynecol.* 2005;106:1013–23.
115. Swidsinski A, Doerffel Y, Loening-Baucke V, Swidsinski S, Verstraelen H, Vaneechoutte M, et al. *Gardnerella* biofilm involves females and males and is transmitted sexually. *Gynecol Obstet Invest.* 2010;70:256–63.
116. Bernard HU. The clinical importance of the nomenclature, evolution and taxonomy of human papillomaviruses. *J Clin Virol.* 2005;32(Suppl 1):S1-6.
117. Favre M, Ramoz N, Orth G. Human papillomaviruses: general features. *Clin Dermatol.* 1997;15:181–98.
118. de Villiers EM, Fauquet C, Broker TR, Bernard HU, zur Hausen H. Classification of papillomaviruses. *Virology.* 2004;324:17–27.
119. Bravo IG, Alonso A. Phylogeny and evolution of papillomaviruses based on the E1 and E2 proteins. *Virus Genes.* 2007;34:249–62.
120. zur Hausen H. Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application. *Nat Rev Cancer.* 2002;2:342–50.
121. Dehn D, Torkko KC, Shroyer KR. Human papillomavirus testing and molecular markers of cervical dysplasia and carcinoma. *Cancer.* 2007;111:1–14.
122. Hazard K, Andersson K, Dillner J, Forslund O. Human papillomavirus subtypes are not uncommon. *Virology.* 2007;362:6–9.
123. Gottschling M, Stamatakis A, Nindl I, Stockfleth E, Alonso A, Bravo IG. Multiple evolutionary mechanisms drive papillomavirus diversification. *Mol Biol Evol.* 2007;24:1242–58.
124. Doorbar J. The papillomavirus life cycle. *J Clin Virol.* 2005;32(Suppl 1):S7–15.

125. Zheng ZM, Baker CC. Papillomavirus genome structure, expression, and post-transcriptional regulation. *Front Biosci.* 2006;11:2286–302.
126. Buck CB, Cheng N, Thompson CD, Lowy DR, Steven AC, Schiller JT, et al. Arrangement of L2 within the papillomavirus capsid. *J Virol.* 2008;82:5190–7.
127. Conger KL, Liu JS, Kuo SR, Chow LT, Wang TS. Human papillomavirus DNA replication. Interactions between the viral E1 protein and two subunits of human dna polymerase alpha/primase. *J Biol Chem.* 1999;274:2696–705.
128. Mach H, Volkin DB, Troutman RD, Wang B, Luo Z, Jansen KU, et al. Disassembly and reassembly of yeast-derived recombinant human papillomavirus virus-like particles (HPV VLPs). *J Pharm Sci.* 2006;95:2195-206.
129. Bedell MA, Hudson JB, Golub TR, Turyk ME, Hosken M, Wilbanks GD, et al. Amplification of human papillomavirus genomes in vitro is dependent on epithelial differentiation. *J Virol.* 1991;65:2254–60.
130. Doorbar J. Papillomavirus life cycle organization and biomarker selection. *Dis Markers.* 2007;23:297-313.
131. Egawa K. Do human papillomaviruses target epidermal stem cells? *Dermatology.* 2003;207:251–4.
132. Giroglou T, Florin L, Schäfer F, Streeck RE, Sapp M. Human papillomavirus infection requires cell surface heparan sulfate. *J Virol.* 2001;75:1565–70.
133. Frattini MG, Laimins LA. Binding of the human papillomavirus E1 origin-recognition protein is regulated through complex formation with the E2 enhancer-binding protein. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1994;91:12398–402.
134. Lazarczyk M, Cassonnet P, Pons C, Jacob Y, Favre M. The EVER Proteins as a Natural Barrier against Papillomaviruses: a New Insight into the Pathogenesis of Human Papillomavirus Infections. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2009;73:348–370.
135. Cheng S, Schmidt-Grimminger DC, Murant T, Broker TR, Chow LT. Differentiation-dependent up-regulation of the human papillomavirus E7 gene reactivates cellular DNA replication in suprabasal differentiated keratinocytes. *Genes Dev.* 1995;9:2335–49.

136. Doorbar J. Molecular biology of human papillomavirus infection and cervical cancer. *Clin Sci (Lond)*. 2006;110:525–41.
137. Doorbar J, Ely S, Sterling J, McLean C, Crawford L. Specific interaction between HPV-16 E1-E4 and cytokeratins results in collapse of the epithelial cell intermediate filament network. *Nature*. 1991;352:824–7.
138. Plummer M, Schiffman M, Castle PE, Maucort-Boulch D, Wheeler CM; ALTS Group. A 2-year prospective study of human papillomavirus persistence among women with a cytological diagnosis of atypical squamous cells of undetermined significance or low-grade squamous intraepithelial lesion. *J Infect Dis*. 2007;195:1582–9.
139. Trottier H, Ferreira S, Thomann P, Costa MC, Sobrinho JS, Prado JC, et al. Human papillomavirus infection and reinfection in adult women: the role of sexual activity and natural immunity. *Cancer Res*. 2010;70:8569–77.
140. Ho GY, Burk RD, Klein S, Kadish AS, Chang CJ, Palan P, et al. Persistent genital human papillomavirus infection as a risk factor for persistent cervical dysplasia. *J Natl Cancer Inst*. 1995;87:1365–71.
141. Wallin KL, Wiklund F, Angström T, Bergman F, Stendahl U, Wadell G, et al. Type-specific persistence of human papillomavirus DNA before the development of invasive cervical cancer. *N Engl J Med*. 1999;341:1633–8.
142. Majewski S, Jablonska S. Human papillomavirus-associated tumors of the skin and mucosa. *J Am Acad Dermatol*. 1997;36:659–85; quiz 686–8.
143. Chuang TY. Condylomata acuminata (genital warts). An epidemiologic view. *J Am Acad Dermatol*. 1987;16:376–84.
144. Clifford GM, Gallus S, Herrero R, Muñoz N, Snijders PJ, Vaccarella S, et al. Worldwide distribution of human papillomavirus types in cytologically normal women in the International Agency for Research on Cancer HPV prevalence surveys: a pooled analysis. *Lancet*. 2005;366:991–8.
145. Vera-Iglesias E, García-Arpa M, Sánchez-Caminero P, Romero-Aguilera G, Cortina de la Calle P. Focal epithelial hyperplasia. *Actas Dermosifiliogr*. 2007;98:621–3.

146. Jenkins D. Histopathology and cytopathology of cervical cancer. *Dis Markers*. 2007;23:199–212.
147. Hording U, Daugaard S, Junge J, Lundvall F. Human papillomaviruses and multifocal genital neoplasia. *Int J Gynecol Pathol*. 1996;15:230–4.
148. Rubin MA, Kleter B, Zhou M, Ayala G, Cubilla AL, Quint WG, et al. Detection and typing of human papillomavirus DNA in penile carcinoma: evidence for multiple independent pathways of penile carcinogenesis. *Am J Pathol*. 2001;159:1211–8.
149. De Vuyst H, Clifford GM, Nascimento MC, Madeleine MM, Franceschi S. Prevalence and type distribution of human papillomavirus in carcinoma and intraepithelial neoplasia of the vulva, vagina and anus: a meta-analysis. *Int J Cancer*. 2009;124:1626–36.
150. Mehanna H, Beech T, Nicholson T, El-Hariry I, McConkey C, Paleri V, et al. Prevalence of human papillomavirus in oropharyngeal and nonoropharyngeal head and neck cancer--systematic review and meta-analysis of trends by time and region. *Head Neck*. 2013;35:747–55.
151. Moscicki AB. Human papilloma virus, papanicolaou smears, and the college female. *Pediatr Clin North Am*. 2005;52:163–77.
152. de Sanjosé S1, Diaz M, Castellsagué X, Clifford G, Bruni L, Muñoz N, et al. Worldwide prevalence and genotype distribution of cervical human papillomavirus DNA in women with normal cytology: a meta-analysis. *Lancet Infect Dis*. 2007;7:453–9.
153. Wright TC Jr, Schiffman M. Adding a test for human papillomavirus DNA to cervical-cancer screening. *N Engl J Med*. 2003;348:489–90.
154. Herrero R, Castle PE, Schiffman M, Bratti MC, Hildesheim A, Morales J, et al. Epidemiologic profile of type-specific human papillomavirus infection and cervical neoplasia in Guanacaste, Costa Rica. *J Infect Dis*. 2005;191:1796–807.
155. Zhao FH, Lewkowitz AK, Hu SY, Chen F, Li LY, Zhang QM, et al. Prevalence of human papillomavirus and cervical intraepithelial neoplasia in China: a pooled analysis of 17 population-based studies. *Int J Cancer*. 2012;131:2929–38.

156. Mollahaliloğlu S, Başaran BB, Eryılmaz Z. Ankara: Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı 2010.
157. Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, Bosch FX, Kummer JA, Shah KV, et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol.* 1999;189:12–9.
158. Munoz N, Bosch FX, Castellsague X, Diaz M, de Sanjose S, Hammouda D, et al. Against which human papillomavirus types shall we vaccinate and screen? The international perspective. *Int J Cancer.* 2004;111:278–85.
159. Kyrgiou M, Mitra A, Moscicki AB. Does the vaginal microbiota play a role in the development of cervical cancer? *Transl Res.* 2017;179:168–82.
160. Milde-Langosch K, Riethdorf S, Löning T. Association of human papillomavirus infection with carcinoma of the cervix uteri and its precursor lesions: theoretical and practical implications. *Virchows Arch.* 2000;437:227–33.
161. Stanley MA, Pett MR, Coleman N. HPV: from infection to cancer. *Biochem Soc Trans.* 2007;35:1456–60.
162. Burchell AN, Winer RL, de Sanjosé S, Franco EL. Chapter 6: Epidemiology and transmission dynamics of genital HPV infection. *Vaccine* 2006;24(Suppl 3):S3/52.
163. Koutsky L. Epidemiology of genital human papillomavirus infection. *Am J Med.* 1997; 102:3–8.
164. Winer RL, Lee SK, Hughes JP, Adam DE, Kiviat NB, Koutsky LA. Genital human papillomavirus infection: incidence and risk factors in a cohort of female university students. *Am J Epidemiol.* 2003;157:218–26.
165. Giuliano AR, Papenfuss M, Abrahamsen M, Inserra P. Differences in factors associated with oncogenic and nononcogenic human papillomavirus infection at the United States-Mexico border. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2002;11:930–4.

166. Aral SO, Holmes KK. Social and behavioural determinants of epidemiology of STDs: industrialized and developing countries. Holmes KK, Mardh P, Sparling PF, et al. (Eds.), *Sexually transmitted diseases* (3rd ed.), McGraw-Hill, New York, 1999:39–76.
167. Winer RL, Hughes JP, Feng Q, O'Reilly S, Kiviat NB, Holmes KK, et al. Condom use and the risk of genital human papillomavirus infection in young women. *N Engl J Med.* 2006;354:2645–54.
168. Bahmanyar ER, Paavonen J, Naud P, Salmerón J, Chow SN, Apter D, et al. Prevalence and risk factors for cervical HPV infection and abnormalities in young adult women at enrolment in the multinational PATRICIA trial. *Gynecol Oncol.* 2012;127:440–50.
169. Castle PE1, Schiffman M, Herrero R, Hildesheim A, Rodriguez AC, Bratti MC, et al. A prospective study of age trends in cervical human papillomavirus acquisition and persistence in Guanacaste, Costa Rica. *J Infect Dis.* 2005;191:1808–16.
170. Wylie JG, Henderson A. Identity and glycogen-fermenting ability of lactobacilli isolated from the vagina of pregnant women. *J Med Microbiol.* 1969;2(3):363–6.
171. Clarke MA, Rodriguez AC, Gage JC, Herrero R, Hildesheim A, Wacholder S, et al. A large, population-based study of age-related associations between vaginal pH and human papillomavirus infection. *BMC Infect Dis.* 2012;12:33.
172. Straight SW, Herman B, McCance DJ. The E5 oncoprotein of human papillomavirus type 16 inhibits the acidification of endosomes in human keratinocytes. *J Virol.* 1995;69:3185–92.
173. Witkin SS, Mendes-Soares H, Linhares IM, Jayaram A, Ledger WJ, Forney LJ. Influence of vaginal bacteria and D- and L-lactic acid isomers on vaginal extracellular matrix metalloproteinase inducer: implications for protection against upper genital tract infections. *MBio.* 2013;4.
174. Nunn KL, Wang YY, Harit D, Humphrys MS, Ma B, Cone R, et al. Enhanced trapping of HIV-1 by human cervicovaginal mucus is associated with *Lactobacillus crispatus*-dominant microbiota. *MBio.* 2015;6:e01084–15.

175. Motevaseli E, Shirzad M, Akrami SM, Mousavi AS, Mirsalehian A, Modarressi MH. Normal and tumour cervical cells respond differently to vaginal lactobacilli, independent of pH and lactate. *J Med Microbiol*. 2013;62(PART7):1065–72.
176. Stoyancheva G, Marzotto M, Dellaglio F, Torriani S. Bacteriocin production and gene sequencing analysis from vaginal *Lactobacillus* strains. *Arch Microbiol*. 2014;196:645–53.
177. Al Kassaa I, Hober D, Hamze M, Chihib NE, Drider D. Antiviral potential of lactic acid bacteria and their bacteriocins. *Probiotics Antimicrob Proteins*. 2014;6:177–85.
178. Williams VM, Filippova M, Filippov V, Payne KJ, Duerksen-Hughes P. Human papillomavirus type 16 E6* induces oxidative stress and DNA damage. *J Virol*. 1992;30:663–6.
179. Schmitt A, Harry JB, Rapp B, Wettstein FO, Iftner T. Comparison of the properties of the E6 and E7 genes of low- and high-risk cutaneous papillomaviruses reveals strongly transforming and high Rb-binding activity for the E7 protein of the low-risk human papillomavirus type 1. *J Virol*. 1994;68:7051–9.
180. Şahiner F, Şener K. Human papilloma virus enfeksiyonları, risk faktörleri ve koruyucu önlemler. *TSK Koruyucu Hekimlik Bülteni*. 2013;12:715–22.
181. Poljak M, Kocjan BJ, Oštrbenk A, Seme K. Commercially available molecular tests for human papillomaviruses (HPV): 2015 update. *J Clin Virol*. 2016;76(Suppl 1):S3-S13.
182. Burd EM. Human Papillomavirus Laboratory Testing: the Changing Paradigm. *Clin Microbiol Rev*. 2016;29:291–319.
183. Gad GF, El-Adawy AR, Mohammed MS, Ahmed AF, Mohamed HA. Evaluation of different diagnostic methods of bacterial vaginosis. *IOSR Journal of Dental and Medical Sciences*. 2014;13:15–23.
184. Lennard K, Dabee S, Barnabas SL, Havyarimana E, Blakney A, Jaumdally SZ, et al. Microbial composition predicts genital tract inflammation and persistent bacterial vaginosis in South African adolescent females. *Infect Immun*. 2017;86:e00410–17.

185. Shipitsyna E, Roos A, Datcu R, Hallén A, Fredlund H, Jensen JS, et al. Composition of the vaginal microbiota in women of reproductive age-- sensitive and specific molecular diagnosis of bacterial vaginosis is possible? PLoS One. 2013;8:e60670.
186. Li XD, Wang CC, Zhang XJ, Gao GP, Tong F, Li X, et al. Risk factors for bacterial vaginosis: results from a cross-sectional study having a sample of 53,652 women. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2014;33:1525–32.
187. Cauci S, Driussi S, De Santo D, Penacchioni P, Iannicelli T, Lanzafame P, et al. Prevalence of bacterial vaginosis and vaginal flora changes in peri and postmenopausal women. J Clin Microbiol. 2002;40:2147–52.
188. Palacios S. Managing urogenital atrophy. Maturitas. 2009;63:315–8.
189. Hoffmann JN, You HM, Hedberg EC, Jordan JA, McClintock MK. Prevalence of bacterial vaginosis and *candida* among postmenopausal women in the United States. J Gerontol B Psychol Sci Soc Sci. 2014; 69(Suppl 2):S205–S14.
190. Ranjit E, Raghubanshi BR, Maskey S, Parajuli P. Prevalence of bacterial vaginosis and its association with risk factors among nonpregnant women: A hospital Based Study. Int J Microbiol. 2018;2018:8349601.
191. Gergova R, Tosheva K, Shtereva M, Iordanova T, Konsulova V, Petrova-Jerova A, et al. Risk factors for bacterial vaginosis - a 3-year study in four medical centers. Akush Ginekol (Sofiia). 2014;53:8–12.
192. Abdullateef RM, Ijaiya MA, Abayomi F, Adeniran AS, Idris H. Bacterial vaginosis: Prevalence and associated risk factors among non-pregnant women of reproductive age attending a Nigerian tertiary hospital. Malawi Med J. 2017;29:290–3.
193. Wira CR, Rodriguez-Garcia M, Patel MV. The role of sex hormones in immune protection of the female reproductive tract. Nat Rev Immunol. 2015;15:217–30.
194. Wira CR, Fahey JV. A new strategy to understand how HIV infects women: identification of a window of vulnerability during the menstrual cycle. AIDS. 2008;22:1909–17.

195. Smart S, Singal A, Mindel A. Social and sexual risk factors for bacterial vaginosis. *Sex Transm Infect.* 2004;80:58–62.
196. Manandhar R, Sharma J, Pokharel B, Shrestha B, Pradhan N. Bacterial vaginosis in Tribhuvan University Teaching Hospital. *J Inst Med.* 2007;27:2–5.
197. Peters N, Van Leeuwen AM, Pieters WJ, Hollema H, Quint WG, Burger MP. Bacterial vaginosis is not important in the etiology of cervical neoplasia: a survey on women with dyskaryotic smears. *Sex Transm Dis.* 1995;22:296–302.
198. Kero K, Rautava J, Syrjänen K, Grenman S, Syrjänen S. Association of asymptomatic bacterial vaginosis with persistence of female genital human papillomavirus infection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2017;36:2215–9.
199. Schwebke JR, Desmond RA, Oh MK. Predictors of bacterial vaginosis in adolescent women who douche. *Sex Transm Dis.* 2004;31:433–6.
200. Brotman RM, Ghanem KG, Klebanoff MA, Taha TE, Scharfstein DO, Zenilman JM. The effect of vaginal douching cessation on bacterial vaginosis: a pilot study. *Am J Obstet Gynecol.* 2008;198:628.e1–7.
201. Bautista CT, Wurapa E, Sateren WB, Morris S, Hollingsworth B, Sanchez JL. Bacterial vaginosis: a synthesis of the literature on etiology, prevalence, risk factors, and relationship with chlamydia and gonorrhea infections. *Mil Med Res.* 2016;3:4.
202. Schwebke JR, Desmond R. Risk factors for bacterial vaginosis in women at high risk for sexually transmitted diseases. *Sex Transm Dis.* 2005;32:654–8.
203. Achilles SL, Austin MN, Meyn LA, Mhlanga F, Chirenje ZM, Hillier SL. Impact of contraceptive initiation on vaginal microbiota. *Am J Obstet Gynecol.* 2018;218:622.e1–10.
204. Vodstrcil LA, Hocking JS, Law M, Walker S, Tabrizi SN, Fairley CK, et al. Hormonal contraception is associated with a reduced risk of bacterial vaginosis: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One.* 2013;8:e73055.
205. Guédou FA, Van Damme L, Deese J, Crucitti T, Becker M, Mirembe F, et al. Behavioural and medical predictors of bacterial vaginosis recurrence among female sex workers: longitudinal analysis from a randomized controlled trial. *BMC Infect Dis.* 2013;13:208.

206. Donders GG. Definition and classification of abnormal vaginal flora. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2007;21:355–73.
207. Srinivasan S, Hoffman NG, Morgan MT, Matsen FA, Fiedler TL, Hall RW, et al. Bacterial communities in women with bacterial vaginosis: high resolution phylogenetic analyses reveal relationships of microbiota to clinical criteria. *PLoS One.* 2012;7:e37818.
208. Oakley BB, Fiedler TL, Marrazzo JM, Fredricks DN. Diversity of human vaginal bacterial communities and associations with clinically defined bacterial vaginosis. *Appl Environ Microbiol.* 2008;74:4898–909.
209. Datcu R, Gesink D, Mulvad G, Montgomery-Andersen R, Rink E, Koch A, et al. Vaginal microbiome in women from Greenland assessed by microscopy and quantitative PCR. *BMC Infect Dis.* 2013;13:480.
210. Hillier SL, Critchlow CW, Stevens CE, Roberts MC, Wolner-Hanssen P, Eschenbach DA, et al. Microbiological, epidemiological and clinical correlates of vaginal colonisation by *Mobiluncus species*. *Genitourin Med.* 1991;67:26–31.
211. Schellenberg JJ, Links MG, Hill JE, Dumonceaux TJ, Kimani J, Jaoko W, et al. Molecular definition of vaginal microbiota in East African commercial sex workers. *Appl Environ Microbiol.* 2011;77:4066–74.
212. Hill JE, Goh SH, Money DM, Doyle M, Li A, Crosby WL, et al. Characterization of vaginal microflora of healthy, nonpregnant women by chaperonin-60 sequence-based methods. *Am J Obstet Gynecol.* 2005;193:682–92.
213. Tosun I, Alpay Karaoğlu S, Ciftçi H, Buruk CK, Aydin F, Kiliç AO, et al. Biotypes and antibiotic resistance patterns of *Gardnerella vaginalis* strains isolated from healthy women and women with bacterial vaginosis. *Mikrobiyol Bul.* 2007;41:21–7.
214. Balashov SV, Mordechai E, Adelson ME, Gyax SE. Identification, quantification and subtyping of *Gardnerella vaginalis* in noncultured clinical vaginal samples by quantitative PCR. *J Med Microbiol.* 2014;63:162–75.

215. Paramel Jayaprakash T, Schellenberg JJ, Hill JE. Resolution and characterization of distinct cpn60-based subgroups of *Gardnerella vaginalis* in the vaginal microbiota. PLoS One.2012;7:e43009.
216. Aroutcheva AA, Simoes JA, Behbakht K, Faro S. *Gardnerella vaginalis* isolated from patients with bacterial vaginosis and from patients with healthy vaginal ecosystems. Clin Infect Dis. 2001;33:1022–7
217. Briselden AM, Hillier S. Longitudinal study of the biotypes of *Gardnerella vaginalis*. Clin Microbiol. 1990;28:2761–4.
218. Piot P, Van Dyck E, Peeters M, Hale J, Totten PA, Holmes KK. Biotypes of *Gardnerella vaginalis*. J Clin Microbiol. 1984 Oct;20(4):677–9.
219. Santiago GL, Deschaght P, El Aila N, Kiama TN, Verstraelen H, Jefferson KK, et al. *Gardnerella vaginalis* comprises three distinct genotypes of which only two produce sialidase. Am J Obstet Gynecol. 2011;204:450.e1–7.
220. Vodstrcil LA, Twin J, Garland SM, Fairley CK, Hocking JS, Law MG, et al. The influence of sexual activity on the vaginal microbiota and *Gardnerella vaginalis* clade diversity in young women. PLoS One. 2017;12:e0171856.
221. Gültekin M, Zayifoglu Karaca M, Kucukyildiz I, Dundar S, Boztas G, Semra Turan H, et al. Initial results of population based cervical cancer screening program using HPV testing in one million Turkish women. Int J Cancer. 2018;142:1952–8.
222. Kulhan M, Kulhan NG, Seven Y, Nayki UA, Nayki C, Ata N, et al. Estimation of the prevalence and distribution of HPV genotypes and identification of related risk factors among Turkish women. Contemp Oncol (Pozn). 2017;21:218–23.
223. Tunç SY, Onan MA, Turp AB, Kuşvuran ED, Fidan I, Güner H. Prevalence and types of cervical human papillomavirus among Turkish women and its relationship with demographic factors in a gynecology outpatient clinic. Eur J Gynaecol Oncol. 2016;37:53–8.
224. Aziz H, Iqbal H, Mahmood H, Fatima S, Faheem M, Sattar AA, et al. Human papillomavirus infection in females with normal cervical cytology: Genotyping and phylogenetic analysis among women in Punjab, Pakistan. Int J Infect Dis. 2018;66:83–9.

225. Marks MA, Gupta S, Liaw KL, Tadesse A, Kim E, Phongnarisorn C, et al. Prevalence and correlates of HPV among women attending family-planning clinics in Thailand. *BMC Infect Dis.* 2015;15:159.
226. Meng LT, Xue Y, Yue T, Yang L, Gao L, An RF. Relationship of HPV infection and BV, VVC, TV: a clinical study based on 1261 cases of gynecologic outpatients. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi.* 2016;51:730–733.
227. Akcali S, Goker A, Ecemis T, Kandiloglu AR, Sanlidag T. Human papilloma virus frequency and genotype distribution in a Turkish population. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2013;14:503–6.
228. Dursun P, Senger SS, Arslan H, Kuşçu E, Ayhan A. Human papillomavirus (HPV) prevalence and types among Turkish women at a gynecology outpatient unit. *BMC Infect Dis.* 2009;9:191.
229. Herrero R, Hildesheim A, Bratti C, Sherman ME, Hutchinson M, Morales J, et al. Population-based study of human papillomavirus infection and cervical neoplasia in rural Costa Rica. *J Natl Cancer. Inst.* 2000;92:464–74.
230. Lazcano-Ponce E, Herrero R, Munoz N, Cruz A, Shah KV, Alonso P, et al. Epidemiology of HPV infection among Mexican women with normal cervical cytology. *Int J Cancer.* 2001;91:412–20.
231. Nejo YT, Olaleye DO, Odaibo GN. Prevalence and risk factors for genital human papillomavirus infections among women in Southwest Nigeria. *Arch Basic Appl Med.* 2018;6:105–12.
232. Gao W, Weng J, Gao Y, Chen X. Comparison of the vaginal microbiota diversity of women with and without human papillomavirus infection: a cross-sectional study. *BMC Infect Dis.* 2013;13:271.
233. Lee JE, Lee S, Lee H, Song YM, Lee K, Han MJ, et al. Association of the vaginal microbiota with human papillomavirus infection in a Korean twin cohort. *PLoS One.* 2013;8:e63514.