



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**CİNSEL YÖNDEN AKTİF KADINLARDA *MYCOPLASMA*
HOMINIS PROFİLİNİN FARKLI YÖNTEMLERLE
İNCELENMESİ ÜZERİNE BİR ARAŞTIRMA**

Şükran ÖZTÜRK

**FARMASÖTİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Sulhiye YILDIZ**

**ANKARA
2016**

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**CİNSEL YÖNDEN AKTİF KADINLARDA *MYCOPLASMA*
HOMINIS PROFİLİNİN FARKLI YÖNTEMLERLE
İNCELENMESİ ÜZERİNE BİR ARAŞTIRMA**

Şükran ÖZTÜRK

**FARMASÖTİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Sulhiye YILDIZ**

**Bu araştırma Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Proje Müdürlüğü'nün 15H0237005
proje numarası ile desteklenmiştir.**

**ANKARA
2016**

Ankara Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Yüksek Lisans/Doktora tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Cinsel Yönden Aktif Kadınlarda *Mycoplasma hominis* Profilinin Farklı Yöntemlerle İncelenmesi Üzerine Bir Araştırma.” Başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Şükran ÖZTÜRK

Tarih:

İmza:

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalında
Şükran ÖZTÜRK tarafından hazırlanan
“Cinsel Yönden Aktif Kadınlarda *Mycoplasma hominis* Profilinin Farklı
Yöntemlerle İncelenmesi Üzerine Bir Araştırma” adlı tez çalışması
aşağıdaki jüri tarafından DOKTORA TEZİ olarak OY BİRLİĞİ / OY
ÇOKLUĞU ile kabul/ret edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 17.10.2016

İmza
Prof. Dr. Sulhiye YILDIZ
Ankara Üniversitesi
Jüri Başkanı

İmza
Prof.Dr. Nurten ALTANLAR
Ankara Üniversitesi
Raportör

İmza
Prof.Dr.T.Murat ÖZSAN
Ankara Üniversitesi
Üye

İmza
Prof.Dr. Meral SAĞIROĞLU
Hacettepe Üniversitesi
Üye

İmza
Prof.Dr. Jülide Sedef GÖÇMEN
TOBB Üniversite
Üye

Tez hakkında alınan jüri kararı, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.

İmza
Unvanı Adı ve Soyadı
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	iii
Kabul ve Onay	iv
İçindekiler	v
Önsöz	viii
Simgeler ve Kısaltmalar	ix
Şekiller	x
Çizelgeler	xi
1. GİRİŞ	
1.1. Genel Bilgiler	1
1.2. Morfolojik Özellikleri	5
1.3. Genetik Özellikleri	8
1.4. Üremeleri ve Kültür Özellikleri	9
1.5. Patogenez ve Virulans Faktörleri	12
1.6. Epidemiyoloji	18
1.7. Oluşturduğu İnfeksiyonlar	21
1.8. Tanı Yöntemi	24
1.8.1. Kültür Yöntemi	24
1.8.2. Kültür Dışı Yöntemler	26
1.8.2.1. Serolojik Tanı	26
1.8.2.2. Moleküler Tanı	27
1.9. Tedavi Yöntemi	27
2. GEREÇ VE YÖNTEMLER	
2.1. Örneklerin Temini ve Saklanması	29
2.2. Araştırmada Kullanılan Besiyerleri ve Sarf Malzemeler	29
2.3. Araştırmada Kullanılan Ekipmanlar	33
2.4. Yöntem	33

2.4.1. <i>Mycoplasma hominis</i> Tespit Yöntemi	33
2.4.2. Klasik Kültür Yöntemi ile <i>M.hominis</i> Tespiti	34
2.4.3. Ticari Kit Yöntemi ile <i>M.hominis</i> Tespiti	36
2.4.4. PCR Yöntemi ile <i>M.hominis</i> Tespiti	38
2.4.4.1. DNA İzolasyonu	39
2.4.4.2. Amplifikasyon	41
2.4.4.3. Agaroz Jel Elektroforezi	42
2.5. İstatistiki Ön Değerlendirme	44
3. BULGULAR	
3.1. Klasik Besiyeri ile Yapılan Çalışma Sonuçları	47
3.2. Ticari Kit Yöntemi ile Yapılan Çalışma Sonuçları	48
3.3. PCR Yöntemi ile Yapılan Çalışma Sonuçları	49
3.4. İstatistiki Değerlendirme	54
3.4.1. Tanımlayıcı İstatistikler	54
3.4.2. Genelleştirilmiş Tahmin Denklemleri (Generalized Estimating Equations, GEE)	54
3.4.3. Yöntemlerin Arasındaki Uyum İçin Kappa Katsayısı	55
3.4.4. Grup Değişkenine Göre Yöntemler Arasındaki Kappa Uyum Katsayısı	57
3.4.5. Numuneler Arası Uyum Katsayısı	61
3.5. Antibiyotik Duyarlılıkları	63
3.5.1. KİT 1'e Göre Antibiyotik Duyarlılıkları	63
3.5.2. KİT 2' ye Göre Antibiyotik Duyarlılıkları	64
4. TARTIŞMA	69
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	78
ÖZET	82
SUMMARY	83
KAYNAKLAR	84

EKLER

Ek-1 Etik Kurul Raporu

Ek-2 Gönüllü Bildirim Formu

Ek-3 Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü İzin Belgesi

Ek-4 Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü (BAP)

Proje Sonuç Raporu

Ek-5 Başkent Üniversitesi Ankara Hastanesi İzin Belgesi

ÖZGEÇMİŞ



ÖNSÖZ

Mycoplasma hominis, infertiliteden, erken doğum, tekrarlayan gebelik kayıpları ve yenidoğanda solunum sistemi hastalığından sorumlu tutulan, cinsel yolla bulaşabilen ve tedavi edilmediğinde ciddi infeksiyonlara neden olabilecek, peptidoglikan yapısında hücre duvarına sahip olmayan ve hücre çapı en küçük mikroorganizmalardandır. Bu çalışmada, cinsel yönden aktif kadınlardan alınan vajen ve idrar örneklerinin Mycoplasma Agar Besiyeri, Ticari kitler ve PCR yöntemleriyle *M.hominis* tespit edilmesi hedeflenmiştir. Ticari kitlerin örneklerdeki tespit oranları, doğruluk yüzdeleri ve antibiyotik duyarlılıklarına karşılaştırmalı olarak bakılarak *M.hominis*' in tespitindeki en sağlıklı yöntem ve örnek tipinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Proje Müdürlüğü (BAP) tarafından desteklenmiş olan tez çalışmam süresince bilgi ve tecrübeleri ile bana destek veren danışman hocam sayın Prof. Dr. Sulhiye YILDIZ' a, Anabilim Dalı hocalarım sayın Prof. Dr. Ahmet AKIN ve sayın Prof. Dr. Nurten ALTANLAR'a teşekkürlerimi sunarım. Deney sürecimde hiçbir desteğini esirgemeyen, her konuda bana yardımcı olan ve aynı zamanda doktorum, Başkent Üniversitesi Ankara Hastanesi Kadın Doğum Kliniği hekimlerinden sayın Prof. Dr. Polat DURSUN'a, deneylerimin ve dolayısıyla tezimin tamamlanmasında büyük emeği olan Başkent Üniversitesi Ankara Hastanesi Kadın Doğum Kliniği hemşiresi olan arkadaşım sayın Esmâ ŞENTÜRK'e, PCR çalışmalarım için bana imkan sağlayan ve yardımlarını esirgemeyen Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü öğretim görevlisi sayın Prof. Dr. Hilal ÖZDAĞ'a, analiz sürecinde bana bilgi ve tecrübeleriyle yardımcı olan Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü' nde uzman sayın Dr. Burcu Yener İLÇE'ye, Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi İstatistik Bölümü araştırma görevlisi sayın Dr. Özlem GÜLLÜ'ye, ve desteklerinden dolayı Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndan Dr. Banu KAŞKATEPE'ye en içten teşekkürlerimi sunarım. Bu süreçte yanımda olan ve her konuda emeklerini esirgemeyen anneme, babama ve kardeşime, yaşama sebebim olan çocuklarım Zümra Güneş ve Mehmet Alaz'a, beni her zaman yüreklendiren ve hep yanımda olan, hayat arkadaşım, sevgili eşim H. Barış ÖZTÜRK'e en içten teşekkürlerimle...

SİMGELER VE KISALTMALAR

ATCC: American Type Culture Collection

Bp: Baz Çifti

dNTP: deoksinükleotitfosfatlar

EDTA: Etilendiamin tetraasetik asit

μ L: Mikrolitre

mg: Miligram

mL: Mililitre

nm: Nanometre

rpm & g: Devir sayısı

ng: Nanogram

μ M: Mikromolar

mM: Milimolar

ŞEKİLLER

Şekil 1.1: <i>M.hominis</i> mikroskop görüntüleri	6
Şekil 1.2: Mikoplazmaların bulunma şekilleri	7
Şekil 1.3: <i>M.homis'</i> in A7 agardaki görüntüsü	7
Şekil 1.4: Mikoplazma kolonilerinin katı besiyerindeki görünümü	8
Şekil 1.5: <i>M.hominis</i> Rec A geni	9
Şekil 1.6: <i>U. urealyticum</i> A7 agar faz kontrast mikroskop görüntüsü	10
Şekil 1.7: <i>M. hominis'</i> in A7 Agardaki görüntüsü	11
Şekil 1.8: Mikoplazma konakçı hücre etkileşimi	17
Şekil 1.9: Dienes boyası ile agar fiksasyon yöntemi	25
Şekil 2.1: Bowin fiksatif ile fikse edilmiş <i>M.hominis</i> agar plağı	35
Şekil 2.2: Dienes boyası ile boyanmış <i>M.hominis</i>	35
Şekil 2.3: Thermo cyclers	39
Şekil 2.4: Nanodrop DNA Yoğunluk Ölçümleri ng/µL	40
Şekil 2.5: VersaDoc Görüntüleme Sistemi	43
Şekil 3.1: Yöntemlere Göre Farklı Sonuçlar	46
Şekil 3.2: Örnek Türüne Göre Sonuçlar	46
Şekil 3.1.1: <i>M.hominis</i> kolonilerinin doku kültürü mikroskobundaki görüntüsü	49
Şekil 3.2.1: <i>M.hominis</i> pozitif (+) besiyeri	49
Şekil 3.2.2: <i>M.hominis</i> negatif (-) besiyeri	49
Şekil 3.2.3: KİT 1 kültür stribinde pozitif <i>M. hominis</i> görüntüsü	50
Şekil 3.2.4: KİT 2 kültür stribinde pozitif <i>M.hominis</i> görüntüsü	50
Şekil 3.3.1: 335 bp primerleri ile yapılan Jel Elektroforez Sonuçları	52
Şekil 3.3.2: 173 bp primerleri ile yapılan Jel Elektroforez Sonuçları	53
Şekil 3.4.2: Yöntemlerde bakteri varlığı ve Odds oranları (OR)	55
Şekil 3.5.1: KİT 1 ile Antibiyotik Duyarlılık Dağılımları	66
Şekil 3.5.2: KİT 2 ile Antibiyotik Duyarlılık Dağılımları	68

ÇİZELGELER

Çizelge 1.1: Mikoplazmaların Taksonomisi	3
Çizelge 1.2: İnsanlardan Elde Edilen Mikoplazma Türleri	4
Çizelge 2.1: 25 µL'lik PCR Analiz Karışımı	41
Çizelge 2.2: Amplifikasyon Sıcaklık Döngüsü	42
Çizelge 2.3: %2'lik Agaroz Jel İçeriği	43
Çizelge 3.1: Pozitif Örneklerin Numune ve Kit Türlerine Göre Dağılımı	46
Çizelge 3.2: Kültür Yöntemi, Kit ve PCR ile Yapılan Çalışma Sonuçlarına Göre Pozitif Hasta Sonuçları	47
Çizelge 3.3.1: Farklı Sonuçların PCR Sonuçları ile Karşılaştırılması	50
Çizelge 3.4.1: Tanımlayıcı istatistikler	53
Çizelge 3.4.2: Genelleştirilmiş Tahmin Modeli	53
Çizelge 3.4.3: Yöntemlerin Kappa Uyum Katsayısı	56
Çizelge 3.4.4: Klasik ve PCR yöntemlerinin uyum katsayısı	56
Çizelge 3.4.5: Klasik ve KİT 2 yöntemlerinin uyum katsayısı	57
Çizelge 3.4.6: Klasik ve KİT 1 yöntemlerinin uyum katsayısı	57
Çizelge 3.4.7: PCR ve KİT 2 yöntemlerinin uyum katsayısı	58
Çizelge 3.4.8: PCR ve KİT 1 yöntemlerinin uyum katsayısı	58
Çizelge 3.4.9: KİT 1 ve KİT 2 yöntemlerinin uyum katsayısı	59
Çizelge 3.4.10: Klasik ve KİT 2 yöntemlerinin grup değişkenine (Şikayet var) göre uyum katsayısı	59
Çizelge 3.4.11: Klasik ve KİT 1 yöntemlerinin grup değişkenine (Şikayet var) göre uyum katsayısı	60
Çizelge 3.4.12: KİT 2 ve KİT 1 yöntemlerinin grup değişkenine (Şikayet var) göre uyum katsayısı	60
Çizelge 3.4.13: Klasik ve KİT 2 yöntemlerinin grup değişkenine (Şikayet yok) göre uyum katsayısı	61
Çizelge 3.4.14: Klasik ve KİT 1 yöntemlerinin grup değişkenine (Şikayet yok) göre uyum katsayısı	61

Çizelge 3.4.15: KİT 2 ve KİT 1 yöntemlerinin grup değişkenine (Şikayetim yok) göre uyum katsayısı	62
Çizelge 3.4.16: Klasik ve KİT 2 yöntemlerinin grup değişkenine (Kontrol) göre uyum katsayısı	62
Çizelge 3.4.17: Klasik ve KİT 1 yöntemlerinin grup değişkenine (Kontrol) göre uyum katsayısı	63
Çizelge 3.4.18: KİT 2 ve KİT 1 yöntemlerinin grup değişkenine (Kontrol) göre uyum katsayısı	63
Çizelge 3.4.19: 72 pozitif örneğin KİT 2'ye göre numune türleri arasındaki ilişkisi	64
Çizelge 3.4.20: 72 pozitif örneğin KİT 1' e göre numune türleri arasındaki ilişkisi	65
Çizelge 3.5.1: KİT 1 Antibiyotikleri	66
Çizelge 3.5.2: KİT 2 Antibiyotikleri	67

1.GİRİŞ

1.1. Genel Bilgiler

Mycoplasma (Mikoplazma) terimi, ‘myces’ (mantar) ve ‘plasma’ (biçim) kelimelerinin biraraya gelmesiyle oluşan, *Mollicutes* sınıfına ait üyeleri tanımlamak için kullanılmaktadır. Edward ve Freunt (1969) tarafından 1956 yılında yapılan çalışmada tanımlanan, Mollicute (Yumuşakça); Latince ‘mollis’ (yumuşak) ve ‘cutis’ (deri) kelimelerinden oluşan sadece plazma membranı ile çevrili, hücre duvarından yoksun, mikroorganizmaları kapsamaktadır. 1995 senesinde Mollicute taksonomisindeki identifikasyon ve sınıflandırma çalışmalarında, başlıca sterol gereksiniminin dikkate alınması öngörülmüştür. Buna göre, sterol gerektirmeyen Mollicute (Mezoplazma, Akholeplazma ve Asteroleplazma cinsleri) ile sterol gerektiren Mollicute (Mikoplazma, Üreaplazma, Entomoplazma, Spiroplazma Anaeroplazma cinsleri) birbirinden ayrılmıştır. Bu mikroorganizmalar, *Mollicutes* sınıfının, *Mycoplasmatales* takımındaki *Mycoplasmataceae* ailesinde yer alan serbest yaşama yeteneğindeki bilinen en küçük (5×10^8 dalton), basit yapılı, kendi kendine replike olabilen sitozin ve guanin miktarları düşük prokaryot canlılar olarak bilinmektedir. İn vitro ortamda çoğalabilme özelliğine sahip mikroorganizmaların yapılarında hem DNA hem RNA bulunmaktadır (Razin, 1998). Yaşam adaptasyonları kommensal veya fırsatçı patojenler şeklinde olmuştur. Mycoplasmatales, genel olarak reproduktif yetmezlik, neonatal mortalite ve morbidite, ürogenital kanal infeksiyonları ile ilişkilendirilmektedir (Stellrecht ve ark., 2004). Mikoplazmaların içinde buldukları *Mollicutes* sınıfındaki mikroorganizmalar, anaerob bakterilerden gen delesyonu sonucu farklılaşmış olup, insanlardan, hayvanlardan ve bitkilerden izole edilebilmektedirler. Bazı türler ise toprakta ve havada serbest olarak bulunabilirler (Güçlüer, 2007; Tekerekoğlu, 2010).

Mikoplazma türleri, hücre dışı besiyerinde üreyebilmeleriyle viruslardan, hücre duvarlarının olmamasıyla bakterilerden ayrılmaktadırlar. *Mycoplasmataceae* ailesinde Mikoplazma ve Üreaplazma olmak üzere iki cins bulunmaktadır (Ekşi ve ark., 2006; Koneman ve ark., 2006). Mikoplazma ve Üreaplazmalardan 17 tür, insanlarda kolonize olmuştur veya hastalığa neden olabilmektedir (Koneman ve ark., 2006; Kuruüzüm, 2007).

Mikoplazma ailesinden, Mikoplazma cinsine ait ilk mikroorganizma izolasyonunun, 1898 yılında Nocard ve Roux tarafından Sığırlarda Bulaşıcı Plöropnömoni'nin (CBPP, Contagious Bovine Pleuropneumonia) tanımlanmasıyla gerçekleştiği bilinmektedir (CIBA, 1972, s:1). Ölümüne neden olan bu bulaşıcı hastalık etkeni, araştırmacılar tarafından zenginleştirici besiyerinde üretilmiş, daha sonra toprak, su ve doğa ortamından sağlıklı veya hasta hayvanlardan, patojen veya saprofit benzer mikroorganizmalar elde edilmiştir (Gerçekler, 1999; Koneman ve ark., 2006). İzole edilen etken *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* SC (small colony type, küçük koloni tipi) olarak tanımlanmış olup, bu etkenler o yıllarda, plöropnömoni benzeri mikroorganizmalar (PPLO, Pleuropneumonia Like Organisms) olarak adlandırılmıştır ve 1929'da Mikoplazma adını almıştır (Sleha ve ark., 2013). Mikoplazmaların insanda ilk olarak 1937 yılında Dienes ve Edsall (CIBA, 1972; s:3) tarafından bir Bartholin bezi absesinden izole edilmiş olduğu bilinmektedir. Mikoplazmalar 1956 yılında Edward ve Freundt tarafından tiplendirilmiş olup, Anderson ve Barile (1965), bu suşun *Mycoplasma hominis* (*M.hominis*) olduğunu bildirmişlerdir (Smith, 1971). 1958 yılında Shepard, üretritli bir hastadan, çok küçük koloniler elde etmiş ve T-Mycoplasma (T=tiny=küçük) adını verdiği mikoplazmayı bulmuştur (Shepard, 1976). Bu mikroorganizmaya daha sonra *Ureaplasma urealyticum* (*U.urealyticum*) adı verilmiştir (Arnold, 1984). 1944 yılında ise, Eaton ve arkadaşları insanda primer atipik pnömoni etkeninin filtrelerden geçebilecek kadar ufak bir mikroorganizma olduğunu saptamıştır. "Eaton etkeni" adı verilen bu mikroorganizmanın daha sonra PPLO olduğu belirtilmiştir. Bu etkenin yapay bir besiyerinde üretilmesi ve *Mycoplasma pneumoniae* (*M.pneumoniae*) olarak tanımlanması ancak yaklaşık 20 yıl kadar sonra Chanock ve arkadaşları tarafından 1961'de başarılmıştır (Blanchard ve Bebear, 2002; Smith, 1971). Maniloff ve

arkadaşları (1965) tarafından yapılan çalışmada birçok mikoplazma suşunun (*M.gallisepticum* dışında) benzer özelliklere sahip olduğu rapor edilmiştir.

Yapılan çalışmalar sonucunda, mikoplazmaların, 600 milyon yıl önce, 2000 kb genom büyüklüğü olan *Streptococcus*'tan dallanarak oluştuğu fikri gündeme gelmiştir. Yaklaşık 450 milyon yıl önce ayrılan dallardan biri olan AAA kolunun; Asteroleplazma, Anaeroplazma ve Akholeplazma dalını, SEM kolunun ise; Spiroplazma, Entomoplazma ve Mikoplazma dalını oluşturmuş olabileceği, üreplazmaların da mikoplazmalardan gelişmiş olabileceği düşünülmüştür (Razin, 1998; Tolga, 2006).

Mikoplazma cinsinin türleri içerisinde *Mycoplasma pneumoniae* (*M.pneumoniae*), *Mycoplasma hominis* (*M.hominis*), *Mycoplasma orale* (*M.orale*), *Mycoplasma salivarium* (*M.salivarium*), *Mycoplasma bucale* (*M.bucale*), *Mycoplasma faucium* (*M.faucium*), *Mycoplasma fermentans* (*M.fermentans*), *Mycoplasma genitalium* (*M.genitalium*), *Mycoplasma lipophilum* (*M. lipophilum*), *Mycoplasma primatum* (*M.primatum*) yer almaktadır. *Ureaplasma* cinsi içinde ise *Ureaplasma urealyticum* (*U.urealyticum*), *Ureaplasma parvum* (*U.parvum*) türleri bulunmaktadır (Afacan ve ark., 2007; Altındiş ve Tanır, 2001; Bilgehan, 1996). İnsanda patojen olarak en sık karşılaşılan türler *M. hominis*, *M. pneumonia*, *U. urealyticum* olarak bilinmektedir.

Çizelge1.1 :Mikoplazmaların Taksonomisi (Roberts ve ark., 1985)

Takım	Aile	Cins	Sterol İhtiyacı	Genom Boyutu (kbp)	DNA G+C %'si	Optimal Üreme Isısı (°C)
Mycoplasmatales	Mycoplasmataceae	<i>Mycoplasma</i>	+	580-1380	23-41	35-37
		<i>Ureaplasma</i>	+	730-1160	27-30	35-37
Entomoplasmatales	Entomoplasmataceae	<i>Entomoplasma</i>	+	790-1140	27-29	30
		<i>Mesoplasma</i>	-	870-1100	27-30	30
	Spiroplasmataceae	<i>Spiroplasma</i>	+	940-2200	25-31	30-37
Acholeplasmatales	Acholeplasmataceae	<i>Acholeplasma</i>	-	1500-1690	27-36	30-37
Anaeroplasmatales	Anaeroplasmataceae	<i>Anaeroplasma</i>	+	1600	29-33	anaerop
		<i>Asteroplasma</i>	-	1600	40	anaerop

Çizelge1.2 : İnsanlardan Elde Edilen Mikoplazma Türleri (Winn ve ark., 2005)

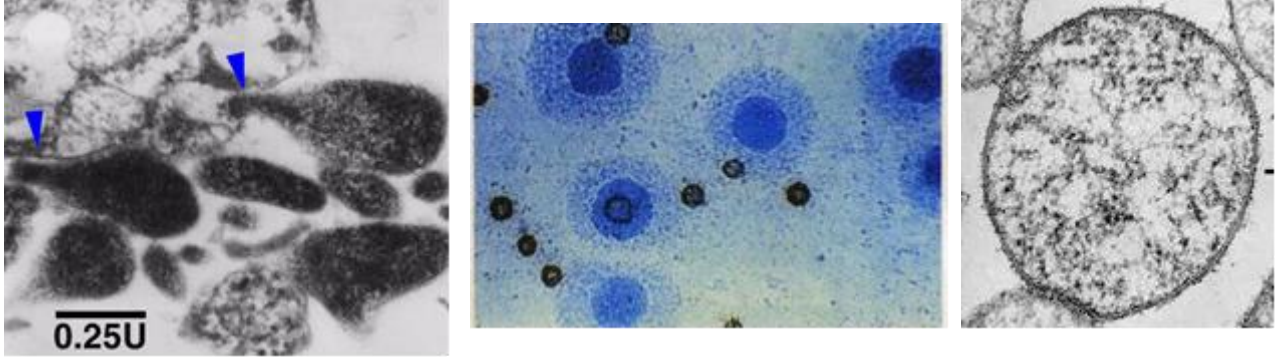
Tür	Kolonizasyon Bölgesi		Metabolizma		Patojenite
	Orofarinks	Üreogenital Sistem	Glukoz	Arjinin	
<i>M.amphoriforme</i>	+	-	+	-	?
<i>M.salivarum</i>	+	-	-	+	-
<i>M. orale</i>	+	-	-	+	-
<i>M.buccale</i>	+	-	-	+	-
<i>M.falciun</i>	+	-	-	+	-
<i>M.lipophilum</i>	+	-	-	+	-
<i>M.pneumoniae</i>	+	-	+	-	+
<i>M.hominis</i>	+	+	-	+	+
<i>M.genitalium</i>	+	+	+	-	+
<i>M.fermentans</i>	+	+	+	+	+
<i>M.primatum</i>	-	+	-	+	-
<i>M.spermatophilum</i>	-	+	-	+	-
<i>M.pirum</i>	?	?	+	+	-
<i>M.penetrans</i>	-	+	+	+	?
<i>U.urealyticum</i>	+	+	-	-	+
<i>U.parvum</i>	-	+	-	-	+
<i>A.laidlawii</i>	+	-	+	-	-
<i>A.oculi</i>	?	?	+	-	-

Mikoplazmalar, insanlarda alt idrar yolları ve genital organlarda, orofarinkste, hastalık yapmaksızın bulunmaktadır. Ayrıca infertiliteden, erken doğum, tekrarlayan gebelik kayıpları ve yenidoğanda solunum sistemi hastalığından sorumlu tutulmaktadır (Gödekman, 2004; Henrich ve ark., 1993; Kılıç ve ark., 2004). Akut epididimo-orşitli hastaların epididim aspiratlarından, kronik prostatitli hastaların prostat sıvılarından izole edilmişlerdir ve her iki mikroorganizma korioamniyonit ve membranların prematüre rüptüründe, erken ve geç endometrit olgularında rol oynamaktadır. *M.hominis* kommensal bakteri olup kadınlar için patojen olabilmektedir ($\geq 10^4$ CCU/mL) (Henrich ve ark., 1993; Kılıç ve ark., 2004).

1.2. Morfolojik Özellikleri

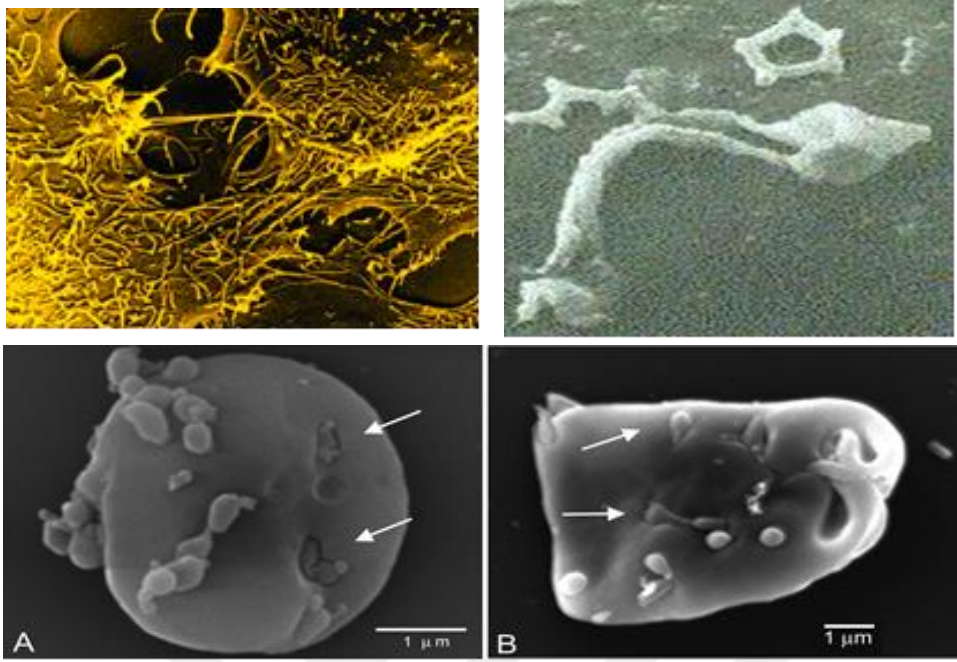
M.hominis'in serbest yaşayan en küçük mikroorganizma olduğu bilinmektedir. Bu mikroorganizmanın bakteriler içinde ayrı bir bölüm olarak sınıflandırılmasının temel nedenlerinden biri hücre duvarı sentez yeteneğinin olmaması ve hücre membranlarının 8-10 nm kalınlığında üç tabakalı sterol içermesi olarak bildirilmiştir (Gerçeker, 1999). *M.hominis* 150–250 nm'lik boyutları ile diğer bakterileri süzebilen filtrelerden geçebilmesi ve elastiki hücre yapılarından dolayı önceleri virus sanılmış, ancak hücre içermeyen ortamlarda serbest yaşayabilmesi, hem DNA ve hem RNA içermesi, in vivo koşullarda ekstrasellüler parazit olabilmesi ile bu gruptan ayrılmıştır. Daha sonraları, hücre duvarlarının olmayışı sebebiyle diğer bakteri türlerinin L formları olduğu düşünülen *M.hominis*'in, L formlarının aksine sterol içermesi, hücre duvarı polimerlerinin ve penisilin bağlayan proteinlerin öncüllerini de sentezleyememesi, hücre duvarı sentez yeteneğini hiçbir koşulda geri kazanamaması gibi özellikleriyle L-formlarından tümüyle farklı olduğu görülmüştür. Diğer taraftan, DNA yapılarının bilinen hiçbir bakteriyle benzerlik göstermemesi nedeniyle ayrı bir cins olduğu kabul edilmiştir. Hücre duvarına sahip olmadığı için, hücre duvarı inhibitörü olan penisilin, sefalosporin, vankomisin ve hücre duvar sentezini inhibe eden antimikrobiyal maddelerin tümüne doğal dirençli olduğu bilinmektedir (Küçük, 1999; Murray ve ark., 2005).

Gram boyası ile boyanmaz, Dienes, Giemsa veya Castenada boya ile boyanabilirler. Kapsülsüz ve hareketsiz olmalarına rağmen bir kısmının dış yüzeyinde kapsül maddelerinin bulunabildiği bilinmektedir. Çok yüksek konsantrasyonlara ulaşabilen mikoplazmalar (10^6 - 10^8 /mL), küçük boyutlarda oldukları için büyüklükleri ışık mikroskopunun çözünürlük sınırındadır (Ataoğlu, 1998; Bilgehan, 2002). Bu nedenle immunofluoresan, faz kontrast mikroskopi veya karanlık saha mikroskobisi yöntemleri ile hücre morfolojisi, hareketi ve bölünmesi hakkında daha yararlı bilgiler edinilebilmektedir (Dienes ve Weinberg, 1990; Güçlüer, 2007; Kuruüzüm, 2007; Salari ve ark., 2002).



Şekil 1.1: *M.hominis* mikroskop görüntüleri (Tekerekoğlu, 2010)

M.hominis, 0,1- 0,3 μm çapında, hücre çeperinin olmaması nedeni ile gösterdiği pleomorfizm ile değişik boyutlarda karşımıza çıkmaktadır. Kokoid, fusiform veya filamentöz (ipliksi) şekillerde görülebilmektedirler. Baskın şekil, mikoplazma türüne ve üreme koşullarına bağımlı olarak değişmektedir (Daxboeck ve ark., 2005). Mikoplazma filamanlarının ortalama 0,2-0,4 nm büyüklüğünde olduğu bildirilmiştir. Filamentöz şekilleri 100 μm 'ye kadar uzayabilir. Koka benzeyen mikoplazmaların oluşturduğu zincirler önce çok nükleuslu iplikçikler halinde birarada bulunmakta, daha sonra bölünerek birbirlerinden ayrılmaktadırlar (Ataoğlu, 1998). Bu mikroorganizmalar genellikle hareketsizdirler. Kirpikleri olmamasına rağmen birkaç cinsinde hareket bildirilmiştir (Kirchhoff, 1992). Flagella veya piliye sahip değildir. (Altındış ve Tanır, 2001; TINWEB, 2016; <http://www.androloji.org.tr>).

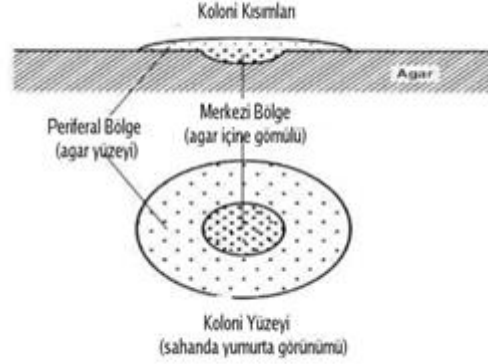


Şekil 1.2: Mikoplazmaların bulunma şekilleri (Tekerekoğlu, 2010).

Mikroorganizmaların tipik koloni morfolojisi Dujardin-Beaumetz (1900) tarafından tanımlanmıştır (Daniels ve Markham, 1982). Agar üzerindeki kolonileri taze kültürde yaygın köpük şeklinde olup daha eski kültürlerde 200-300 µm çapında tipik “sahanda yumurta” görünümündedir (Judlin, 2009). Peptidoglikan sentezini inhibe eden antimikrobiyallere direnç özelliklerinden de yine bu morfolojik yapılanma sorumludur. Fakültatif anaerop oldukları bilinmektedir (Göral, 1994).



Şekil 1.3: *Mycoplasma hominis*' in A7 agardaki görüntüsü (Shankar ve ark., 2005).



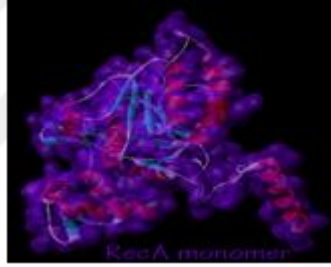
Şekil 1.4: Mikoplazma kolonilerinin katı besiyerindeki görünümü
(www.gsbs.utmb.edu/microbook/images/fig37_3.JPG)

1.3. Genetik Özellikleri

M. hominis'in çift sarmallı 665.445 bp'lik, %27,1 G+C oranında, tek bir PG21 dairesel DNA genomuna sahip olduğu bilinmektedir. 537 olarak varsayılan DNA kodlama dizini içerir ki buda %89,9 gen yoğunluğunu temsil eder (Ataoğlu, 1998; Boesen ve ark., 2004; Pereyre ve ark., 2009). Genomların kodlama potansiyellerini, kodlama bölgelerinde yeniden düzenleme yaparak arttırmaya çalışmaktadır. Kısıtlı genoma sahip olan bu mikroorganizmaların birçok bakteri türünde görülen enzimatik yolları olmadığı için besin gereksinimleri farklılık göstermektedir. İhtiyaç duydukları besinleri temel olarak ökaryotik hücrelerden temin ettikleri gibi yüksek seviyede nükleaz ve proteaz gibi parçalayıcı enzimler de üretebilirler (Dybvig ve Voelker, 1996). Çoğu mikoplazma türü membran fonksiyonu ve gelişimi için prokaryotlarda az görülen, ekzojen kolestrole ihtiyaç duymaktadır (Baseman ve Cagle, 2004). Ayrıca, önemli yüzey antijenlerini kodlayan genlere ait tekrarlayan elementler içermektedirler. Diğer bir farklı özellikleri de kodon kullanımlarıdır. TGA pek çok organizmada bitiş kodonuyken, çoğu mikoplazma türünde triptofanı kodlamaktadır (Dybvig ve Voelker, 1996). Mol ağırlığı, 500 MDa' olarak bilinmektedir. Genomik ölçüsünün yaklaşık 5×10^8 dalton olduğu ve bu büyüklüğün

Escherichia coli genomunun yaklaşık 1/4'i kadar olduğu bildirilmiştir. Bu kadar küçük bir genom, bir canlı sistemi için gerekli minimum bilgiyi taşıyan kapasitededir. (Shimeld ve Rodgers, 1999; Waites ve ark., 2007).

Mikoplazmaların gen kopyalama kapasitelerinin sınırlı olduğu, hasar görmüş DNA'yı onaran SOS sistemine ve aktif DNA rekombinasyonuna sahip oldukları bilinmektedir. Bu rekombinasyondan *RecA* proteini sorumludur. Mikoplazmalardaki proteinde oluşan ve kalıtsal olmayan değişiklikler fosforilasyondan ibarettir. Fosforilasyonda görev yapan proteinler, hücresel yapışma, kayma hareketi ve hücre bölünmesini gerçekleştirmektedir. Yapılan bazı çalışmalarda ise, mikoplazmaların kontraktıl hücresel iskelet proteinine sahip olduğu tespit edilmiştir (Güçlüer, 2007; Tekerekoğlu, 2010).



Şekil 1.5: *M.hominis* Rec A geni (Heather ve ark., 2001)

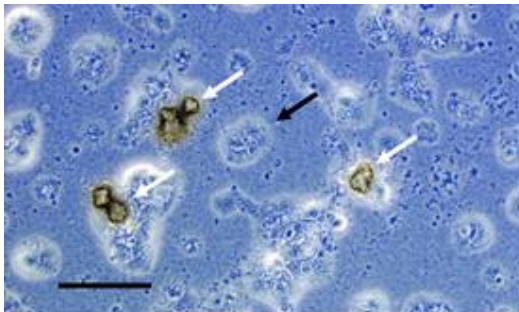
1.4. Üremeleri ve Kültür Özellikleri

M.hominis mikroorganizmaları biyoşimik metabolik proseslerin birçoğundan yoksun olduğu için genel kullanım besiyerlerinde üretilmemektedirler (Daxboeck ve ark., 2005; Miranda ve ark., 2005). Üremeleri için bol miktarda temel besin maddesi ihtiva eden zenginleştirilmiş besiyerlerine ihtiyaç duyulmaktadır (Winn, 2005). Bu besiyerinde, haben sıvısı veya at serumu (%20–30), pepton, sterol, sığır kalp infüzyon buyyonu ve maya ekstresi gibi maddeler bulunmaktadır (PPLO

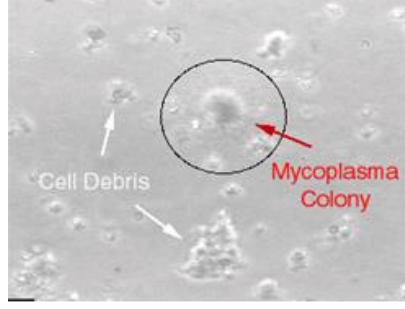
besiyeri) (Boesen ve ark., 2001). Zenginleştirilmiş besiyerinde kolesterole gereksinim duymaktadırlar ve kolesterole gereksinim duyan tek prokaryot olarak bilinmektedirler. Bu katkı maddeleri membrana ait lipid komponentlerin veya onların prekürsörlerinin sentezine yardımcı olmaktadır (Gerçeker, 1999; Murray ve ark., 2005).

Birçok mikoplazma türü, fakültatif anaerob olmasına rağmen aerobik olarak daha iyi üremektedirler. Bununla beraber birçok suşun primer izolasyonunda %95 Na ve % 5 CO₂-li bir ortam gerekmektedir. Sıvı besiyerlerinde bulanıklık oluşturmazlar (Hartmann, 2009; Murray ve ark., 2005). Bazen; üreme kontrolü için indikatör madde olarak bilinen Fenol kırmızısı, DNA büyüme faktörlerinden L-sistin - NADH (betanikotinamiddinükleotid), Gram pozitif bakteriler ve mantarların üremesini baskılayacak talyum asetat ve penisilin ilavesi gerekebilir (Murray ve ark., 2005).

Mikroorganizmanın üreyebildiği Shepard A7 besiyeri biyokimyasal belirtece gerek duymadan koloni morfolojisi ile ayırım sağlamaktadır. Shepard A7 katı besiyerinin çeşitli modifikasyonları da mevcuttur. Embriyonlu yumurtanın koryoallantoik zarında üretilebilmektedirler. Hücre yüzeylerinde ve doku kültüründe üreyebildikleri gibi birçok doku kültürünü de kontamine edebilirler (Gerçeker, 1999; Zheng ve ark., 1995).



Şekil 1.6: *U. urealyticum* A7 agar faz kontrast mikroskop görüntüsü (Shankar ve ark., 2005)



Şekil 1.7: *M. hominis*'in A7 Agardaki görüntüsü (Shankar ve ark., 2005)

Üremeleri için en uygun ısı 37 °C' ve pH ise 6-8,5 arasındadır. Bu durum suşa göre değişim göstermektedir (Freeman, 1979). *M. hominis* pH yönünden en toleran mikroorganizma olarak bilinmektedir. Besiyerlerine sterol kaynağı olarak eklenen at serumunun, bakterinin protein ve lipid ihtiyacını karşıladığı, sterolün birçok mikoplazma türünde hücre zarının sentezi için gerekli olduğu bilinmektedir (Shankar ve ark., 2005). Ayrıca substrat transportu ve son ürünlerin hücre zarından geçmesi de sterol varlığında gerçekleşmektedir. Mikoplazmaların pek çoğu enerji kaynağı olarak glikozu (fermentatif olanlar) veya arginini (nonfermentatif olanlar) kullanmaktadırlar (Göral, 1994).

Sıvı besiyerlerinde çoğalma hızları 1 – 6 saat arasında değişebilmektedir. Katı besiyerinde ise 7 – 20 gün arasında üreme görülmektedir. İnsandan izole edilen mikoplazmaların çoğu glikozu fermente etmeleri, arjinini kullanmaları veya üreyi hidrolize etmelerine göre sınıflandırılmaktadır. SP-4 sıvı ve katı besiyeri *M.pneumoniae* için geliştirilmiş olmakla birlikte glikoz yerine; arjinin eklenirse *M.hominis*, üre eklenirse *U.urealyticum* için kullanılabilir (Boesen ve ark., 2001; Waites ve ark., 2005; <http://www.androloji.org.tr>).

Mikoplazma Kùltürlerinin Saklanması:

Bazı mikoplazmaların sıvı kùltürleri soğukta ancak birkaç hafta saklanabilmektedir. Hücre sayısını sabit tutmak amacıyla sıvı kùltürlerin -80°C' de muhafaza edilmesinin uygun olduğu bu sıcaklıkta aylarca hatta yıllarca canlı halde saklanabildikleri bildirilmektedir (Hill, 1993; Serin, 1993; <http://www.klimik.org.tr>).

Dirençlilik

Mikoplazmaların nemli ısıya, ozmotik çevredeki değişikliklere, dezenfektanlara deterjan, alkol ve organik solventlere, antikor ve kompleman lizisine duyarlı olup kısa sürede harap olabildikleri bilinmektedir. 55°C'ye 15 dakika, 60°C'ye 5 dakika dayanabilirler. %1 fenol ve %0,5 formaline duyarlı olup birkaç dakikada öldükleri bilinmektedir. *U.urealyticum* hariç talyum asetat'a, penisiline, ultraviöle ışınlarının etkisine ve soğuğa oldukça dirençlidirler (Razin ve Tully, 1983; Serin, 1993).

1.5.Patogenez ve Virulans Faktörleri:

Ekstrasellüler parazit olarak infeksiyon meydana getiren *M.hominis*, primer mukozal bir patojendir. Özellikle ürogenital ve solunum sistem mukozasında silli ya da silsiz epitel hücrelerinin yüzeyine tutunabilmektedir (Prieto ve ark., 2015). Bundan sonraki patogenetik mekanizmalar açık olmamakla birlikte, *M.hominis*'in hücre hasarını; hidrojen peroksit'e bağlı doğrudan sitotoksik etkiyle veya antijen-antikor komplekslerinin etkisiyle ya da inflamatuvar yanıtta yer alan mononükleer hücrelerin infekte hücreyi doğrudan ya da sitokinler aracılığıyla sitolize uğratmaları

ile oluşturdukları saptanmıştır (Gerçeker, 1999; Gödekman, 2004. Waites ve ark., 2005).

M.hominis'in hastalıklardaki patogenezinin biyolojik özelliklerine ve virulanslarını azaltıcı unsurlara bağlı olduğu bilinmektedir. *M.hominis*'in virulans determinantlarını belirlemek diğer prokaryotların aksine oldukça zordur. Biyolojik gereksinimleri, suşlar arasında olduğu gibi konakçıdan konakçıya da değişebilmektedir. Ayrıca, genellikle kronik olan mikoplazmal infeksiyonlar, bu etkenlerin konakçıdaki değişikliklere uyum kapasitelerinin oldukça yüksek olduğunu göstermektedir (Güçlüer, 2007; Waites ve ark., 2005).

İnsan ve hayvanlardaki mikoplazmaların pek çoğu, ürogenital ve solunum sistemine epitelyal olarak bağlanabilseler de, bunların az bir bölümü dokularda tutulum sağlamaktadır. Bu nedenle mikoplazmalar yüzey parazitleri olarak nitelendirilmektedirler. Bunun yanısıra, genital kanalda asemptomatik kolonizasyonların da olduğu bilinmektedir. Bu durumda, immün sistemde oluşan zayıflama, bakteriyel popülasyondaki artış gibi sebepler konakçıda infeksiyonu aktive edebilmektedir. Mikoplazma infeksiyonlarını tetikleyici bir diğer özellik ise, konakçının stres altında olması olarak bilinmektedir (Meiklejohn, 1944; Waites ve ark., 2005).

Konakçı immün sistemi ile mikoplazma arasındaki etkileşimler, spesifik ve nonspesifik reaksiyonlara dayanmaktadır. Konakçı savunma mekanizmasının cevabı, mikoplazmal antikor salınımı, opsonizasyon ve fagositoz, hücresel immünite sitmlasyonu ile gerçekleşmektedir. Bu sırada infeksiyona bağlı lezyonlar oluşmakta ve mikoplazmalar, nonspesifik etkilerle konakçı immün sistemine karşı direnmeye çalışmaktadır (Bilgehan, 1996; Boesen ve ark.,2001; Tekerekoğlu, 2010).

M.hominis'in patojenitesine bakıldığında nadiren kana karışmak ve dokulara nüfuz etmek suretiyle hücre yüzeyine genellikle de müköz membrana yapışma yeteneğine (aderans) sahip olduğu görülmektedir (Zhang ve Wise, 1997). Hücre yüzeyine yapışmak kolonizasyon için önemlidir ve virulansı belirleyici başlıca kriterlerden biri olarak değerlendirilmektedir. Mikoplazmaların reseptör olarak konak hücre yüzeyinde bulunan özgül molekülleri kullandıkları bilinmektedir. Bu reseptör yerleri genellikle glukokonjugatlardır. Konak hücre ile çeşitli şekillerde etkileşime geçtikleri ve türlerine göre dokuda hastalık oluşturma etkilerinin farklı olduğu tespit edilmiştir (Baum, 2005; Gerçeker, 1999; Gödekman, 2004). İnfeksiyon hastalıklarının ortaya çıkmasında, proinflatuvar sitokin salınımı, inkubasyon süresi, konakçı immunitesi ve yaşı da önem taşımaktadır. Mikoplazmal infeksiyonlarda klinik belirtiyi etkileyen faktörler arasında proinflatuvar sitokin salınımı da görülmektedir. Bilinen virulans determinantları arasında, biyosentetik öncüller, etken yüzeyinin bütünlüğünü sağlayan ve bağışıklığı düzenleyici aktivitelerde görülen kapsül benzeri materyal ile elektron ihtiva eden yüzey, yüzey farklılığı, fosfolipaz, ATP'az, hemolizin, proteaz, nükleaz (mikoplazmal enzim sekresyonları), antijenik varyasyon, konakçının immun sisteminden kaçabilme ve çeşitli antibiyotik tedavilerine karşı dirençli olma özellikleri bulunmaktadır (Güçlüer, 2007; Waites ve ark., 2005; <http://www.klimik.org.tr>)

Pek çok patojen *M.hominis*, konakçı hücrelerine tutunabilmeyi sağlayan aracı polar tip organellere sahiptir. Yapılarında birbiriyle ilişki içerisinde olan aksesör proteinler, proteinler ve adhezinler bulunmaktadır. Adhezinlerin, hücrel adhezyonda rol oynadıkları, buna ek olarak birçok aksesör membran proteininin de bu olaya karıştığı düşünülmektedir. Ayrıca meydana gelen mutasyonlar sonucunda azalan adhezyon kapasitesinin infektiviteyi azalttığı saptanmıştır (Waites ve ark., 2005). Yapısal ve fonksiyonel hareket, yapılarındaki protein ağı sayesinde sağlanmaktadır. Protein ağı, adhezinlerin biraraya gelmesinden sorumlu olmasının yanı sıra, glikolipidler aracılığı ile ökaryotik hücre ve müköz membran yüzeylerinde de mikoplazmal kolonizasyonu sağlamaktadır. Mikoplazmalarda, hücrelere tutunmayı sağlayan bu proteinleri kodlayan genlerin, horizontal gen transferiyle

aktarılabildiği gösterilmiştir (Güçlüer, 2007; <http://www.klimik.org.tr>; <http://www.androloji.org.tr>).

M.hominis'in metabolizması sonucu üretilmiş süperoksit radikalleri ve toksik hidrojen peroksitin, konakçı hücre membranında oksidatif hasara yol açtığı düşünülmektedir (Güçlüer, 2007; Waites ve ark., 2005). Böylece, oluşan hücre tahribatı sonucu açığa çıkmış olan toksik komponentler (Örneğin, kompleks polisakkaritler) konakçı hücre besin maddelerinden yoksun bırakmak suretiyle hasar oluşturabilmektedir. Bazı mikoplazmalar konak hücre içine giriş için çeşitli mekanizmalar oluşturmuştur. Böylelikle hücre içi ortam paraziti olarak, hem immün sistemden hem de antibiyotiklerin etkisinden korunmuş olmaktadır (Citti ve Wise, 2005; Rottem, 2003). Mikoplazmaların hücre duvarına sahip olmaması konak hücreyle doğrudan bağlantı kurmasını kolaylaştırmaktadır. Uygun koşullarda, bu durumda hücre füzyonu oluşabilmektedir (Rottem, 2003).

Füzyon sürecinde, mikoplazma bileşikleri konak hücreye taşınarak hücrenin normal fonksiyonlarını etkilemektedirler. Örneğin; etkin bir fosfoprotein fosfatazın salınımı, hücrenin normal sinyal iletim sistemlerinde değişikliklere yol açabilmektedir. Bunun dışında, bazı durumlarda ökaryotik hücrelere mikoplazmanın yapışması sitopatik etkiye yol açarak mikro-lezyonların ve küçük nekroz odaklarının meydana gelmesine neden olmaktadır (Rottem, 2003). Çoğunlukla hücre dışı parazit olarak görülen fakat hücre içini de invaze edebilen mikoplazmalar kommensal olarak değerlendirilmektedir. Azalmış metabolik aktiviteleriyle organizmada hücre kültürüne göre uzun süreli jenerasyon zamanına sahip oldukları için ökaryotik hücrelerden daha fazla büyüyememektedirler. Bu nedenle de hücrelerin ölümüne sebep olmadıkları bildirilmiştir (Citti ve Wise, 2005; Koneman ve ark., 2006).

M.hominis ve *Ureaplasma* türlerinin mukoza yüzeyine bağlanma mekanizması henüz belirlenememiştir. *M. hominis*'te kolonizasyonu ve infeksiyonu

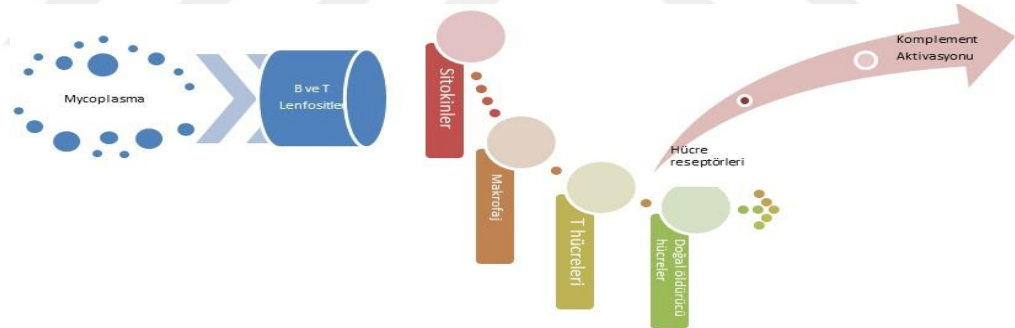
başlatmada hücre adherens proteinleri sorumludur. *M. hominis* yüzeyinde P50 ve P100 gibi sitoadezin özelliği olan, ökaryotik hücreye tutunmayı sağlayan “antijenik yüzey lokalize polipeptidler” bulunmaktadır (Henrich ve ark., 1993). *M. hominis* ayrıca sülfatlanmış glikolipidlere de bağlanabilmektedir. Sülfat glikolipidleri ve diğer glikokonjugatlar yüksek konsantrasyonlarda dişi ve erkeğin ürogenital sisteminde bulunabilmektedir. *M. hominis*'in bu moleküllerle spesifik etkileşimi ürogenital doku yönelimini açıklamaya yardım etmektedir. Rekombinant P50 proteinlerinin HeLa hücrelerine bağlanması yüksek moleküler ağırlıklı dekstranlarca inhibe edilmektedir. Bu durum, P50 hücre adherens proteininin konak hücre membranındaki süfotidlere bağlanmasını göstermektedir. *M. hominis*'in P100 hücre adherens lipoproteininin de hücre membranına peptit transportu için substrat bağlayıcı bölgeye sahip olduğu bilinmektedir (Henrich ve ark. 1999).

Henrich ve arkadaşları (1999)'nin yaptığı çalışma *M. hominis*'in sitoaderans proteinlerinin identifikasyonunda yol gösterici olduğu ve spesifik proteinlerin sitoaderansı sağlayabileceği belirtilmiştir. Major adezin proteini; Vaa (variable adherence-associated) olarak adlandırılan, altı farklı *vaa* gen tipiyle kodlanan adherensle ilişkili yüzey etkileşim proteinine sahiptir (Boesen ve ark. 2001). Bu gen, açılıp kapanabilir özellikte olarak tanımlanmıştır ve fonksiyonu mikroorganizmanın bir hücreden diğerine yayılmasını sağladığı şeklinde açıklanmaktadır. Vaa değişken aderansla ilişkili antijendir, antijen çeşitliliğe uğrayabilmektedir ve bu durum *M. hominis*'in konak hücre immün sisteminden kaçışını sağlamaktadır (Boesen ve ark., 2004; Henrich ve ark., 1993; Koneman ve ark., 2006; Zheng ve ark., 1995).

Mikoplazmaların, solunum sistemi ve ürogenital yolların epitel hücrelerine adsorbsiyon yeteneği olduğu bilinmektedir (Razin ve ark., 1998). Bu özelliklerinden dolayı solunum epiteline ve vajen epitel hücrelerine adsorbe olarak solunum sistemi ve genito-üriner sistem infeksiyonlarına sebep olabilirler (Taylor, 2007). Aynı zamanda sperm hücrelerine de hücre yüzeyindeki özgül sülfoglukolipid reseptörlere bağlanarak adsorbe oldukları bilinmektedir. Bu reseptörlerin en önemlisi

sülfogalaktogli-serolipid tir (SGG). Mikoplazmaların bu reseptörlere bağlanması spermin yumurtaya penetrasyonunu azaltmakta dolayısıyla fertilitede bir azalma olmaktadır (Waites ve ark., 2009).

M.hominis poliklonal T ve B hücre aktivasyonunun yanı sıra lenfosit ve makrofaj uyarımı ile interferon ve koloni stimulan faktörler gibi sitokinlerin de uyarımına yol açmaktadır. Öncelikle, mikoplazmalar, B ve T lenfositlerini suprese edip, sitokinlerin etkilenmesini sağlayarak T hücreleri, makrofajlar ve doğal öldürücü hücrelerin sitotoksitesini arttırmaktadırlar. Sonrasında hücre reseptörlerini uyararak, komplemanı aktive etmektedirler. Mikoplazmaların konakçı hücreleri etkilemesinin patojenitelerine bağlı olduğu bilinmektedir. Buna göre, infeksiyon kronik veya kalıcı bir hal alabilmektedir. Ancak pek çoğunun, kronik infeksiyonlara sebep olabildiği bildirilmiştir (*M.bovis* gibi) (Boesen ve ark., 2001; Gödekman, 2004; Waites ve ark., 2005).



Şekil 1.8: Mikoplazma Konakçı Hücre Etkileşimi

Lenfositlerin mitojenik cevabı ve MHC (Major Histocompatibility Complex) genlerinin kontrol mekanizması, mikoplazma suşları ve hayvan türlerine göre farklılık göstermektedir. Mikoplazmalar, B ve T lenfositlerce tanınmış olan antijenik epitoplardan farklı olarak, antijenik reseptörlere cevaben, lenfositleri nonspesifik olarak uyarılmaktadır. Lenfosit aktivasyonu, infeksiyona etkeni olan mikoplazma

suşuna ve kaynağına göre değişebilmektedir. Antikor salgılanması ise, mikoplazma antijenitesinden bağımsızdır. Ancak mikoplazmaların farklı hücrelerden elde edilen antikor üretimine sebep olduğu bilinmektedir (Gödekman, 2004; Salari ve ark.,2002).

Mikoplazmalar kuvvetli makrofaj stimulatörleridir. Farklı mikoplazma türleri ile yapılan bazı çalışmalar, mikoplazmaların kendi yüzey antijenlerini değiştirebilme özelliğine sahip olduklarını göstermektedir. Bu sayede, konakçı humoral yanıtından kaçabildikleri düşünölmektedir. Sahip oldukları bu değişken yüzey antijenlerinin immunojenik özelliğe sahip olan lipoproteinler olduğu bilinmektedir. Lipoproteinler, N-terminal yapıları sayesinde immun aktivatörler olarak rol oynamaktadırlar. Mikoplazma lipoproteinlerinde bulunan N-asil gruplarının in vitro şartlarda makrofajları uyarma kapasitesine sahip olduğu belirlenmiştir. Bu nedenle, lipopeptidlerin ve lipoproteinlerin mikoplazmaların meydana getirdiği yangısal reaksiyonların başlıca sebebi olduğu düşünölmektedir (Gödekman, 2004; Murray ve ark., 2005).

1.6. Epidemiyoloji

M.hominis, asemptomatik kadın ve erkeklerin genital bölgelerinden izole edilebilmektedir. Genital mikoplazmalar, öncelikle cinsel olarak aktif bireylerin alt genital sistemi olmak üzere pek çok yerde bulunabilen, salpenjitli hastalarda ise üst genital sistemden de izole edilebilen mikroorganizmalar olarak bilinmektedir (Afacan ve ark., 2007; Ekşi ve ark., 2006). Mikoplazmaların genitoüriner sistemde görölme sıklıkları sosyo ekonomik yapı, yaş, ırk, cinsel aktivite, gebelik gibi hormonal değişikliklere bağlı olarak farklılıklar göstermektedir (Küçüker, 1999; Verteramo ve ark., 2013; Waites ve ark., 2005). Mikroorganizmaların edinilme epidemiyolojileri bu mikroorganizmaların cinsel yolla geçiş ile ilişikili olduğunu ortaya koymaktadır (Pelit ve ark., 2010).

Kadın genital sistemindeki *M. hominis* ve *U. urealyticum* doğum sırasında bebeklerde kolonizasyona yol açabilmektedir. Gelişmekte olan fetus maternal, genital sistem florasından korunmuştur. Plasenta ve yenidoğanın mikoplazmalar ile ilk kolonizasyonu plasental membranların rüptüründen sonra, doğum kanalında olmaktadır. Ureaplazmalar kız bebeklerin 1/3'ünün genital sisteminden izole edilirken, *M. hominis* için bu oran daha düşüktür. Erkek bebeklerde ise bu mikroorganizmalar daha az bulunmaktadır. Genital mikoplazmalar prepubertal çocuklarda genitoüriner sistemden nadiren kültüre edilirlerken puberteden sonra kolonizasyon primer olarak seksüel ilişkinin sonucu olmaktadır. Seksüel temas hikayesi olmayan erişkinlerde genital mikoplazma kolonizasyonu çok seyrek gözlenmektedir. *M.hominis* sıklığının erken yaşta gerçekleşen cinsel deneyim ve birden fazla seksüel partner ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (Nulens ve ark., 2016; Nunez Troconis,1999; Verteramo ve ark., 2013). Seks işçileri ile yapılan çalışmalarda, *M.hominis* sıklığını, Pingmin ve arkadaşları (2005) %34,72, Deguchi ve arkadaşları (2009) %19,6, Padang ve arkadaşları (2015) %33 olarak bildirmiştir. *M.hominis* kültür pozitifliği seksüel partner sayısı ile ilişkili bulunmuştur. Ortaya çıkan sonuçlar göstermektedir ki, özellikle *M. hominis*'in sıklığı cinsel aktivite ile ilişkilidir. Gebe kadınlarda ise gebe olmayanlara göre daha sık bulunduğu bildirilmiştir. Menapoz döneminden sonra ise izolasyon sıklığı azalmaya başlamaktadır (Taylor, 2007). Bengisun ve arkadaşlarının (1996) vajinal akıntı şikayeti olan 74 gebe, 93 gebe olmayan 167 kadın ile yaptıkları çalışmada, gebe grupta *M.hominis* sıklığı %2,7, *U.urealyticum* sıklığı %29,72, iki mikroorganizmanın birlikte görülme sıklığı ise %21,62 olarak bulunmuşken, gebe olmayan grupta oranlar sırasıyla; %1,07, %25,8, %17,2 olarak tespit edilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde, gebe grupta her iki mikroorganizmanın da görülme sıklığının daha yüksek olduğu dikkat çekmektedir.

Mikoplazmaların kolonize olduğu kadınlarda plasenta membranı ve amniyotik sıvının bu mikroorganizmalarca infekte edilmesiyle erken doğum gelişebilmektedir. Yapılan çalışmalarda *M. hominis* ile kolonize anneden doğan

infantlarda kolonizasyon %18 – 45 olarak bulunmuştur (Kenny, 2005; Konneman ve ark., 2006)

Genital mikoplazmaların infeksiyonlardaki rolüne henüz tam olarak bir açıklama getirilememiştir. Erkek ve kadınlarda epidemiyolojik verilerin değerlerindeki artışa dikkat çekilmelidir. *Ureaplasma spp.* cinsel yönden aktif kadınların serviks veya mukozal yüzeyinin %40- 80'inde; *M. hominis* %21 - 53'ünde bulunmaktadır (Domingues ve ark., 2003; Pingmin ve ark., 2005). Bazı çalışmalarda ise %30 – 80 arasında rapor edilmiştir (Waites ve ark., 2005).

Genital mikoplazmaların izolasyonu zor olduğundan laboratuvarında tespit edilenden daha fazla sayıda olduğu tahmin edilmektedir. Pubertede kolonizasyonun artması fırsatçı patojen olduğunu göstermektedir (TINWEB, 2016). Kapsamlı bir çalışmada kolonize anneden doğan bebeklerin nazofarengial sekresyonunda bu mikroorganizmaların varlığına bakılmış ve servikal kolonizasyon yüzdeleri *Ureaplasma urealyticum* için %57,5, *Mycoplasma hominis* için %15,8 olarak tespit edilmiştir. Yenidoğan nazofaringeal sekresyonlarında *Ureaplasma urealyticum* %50,8 *M. hominis* %6,6 ve tüm pozitif izolatlar arasında ise sırasıyla %88,4 ve %42,1 oranlarında saptanmıştır (Chua ve ark., 1999). Vertikal geçiş %45–66 oranındadır. Bakteriyel vajinozlu kadınlarda sayı artarken, kolonizasyon olanlarda üreyen mikroorganizmanın sayısı azalmaktadır (Güçlüer, 2007). Wang (1992), 1309 servikal/vajinal numuneyi *U. urealyticum* yönünden değerlendirmiştir. Seksüel hikayesi olmayanlardan evli fakat gebe olmayan ve çoklu seksüel partneri olan kadınlarda prevelansın arttığı gözlenmiş, seksüel partner sayısı, sosyo-ekonomik statü ve eğitimin insidans ile ilişkili olduğu belirtilmiştir.

Bir başka çalışmada, 30 yaş altındaki 400 seksüel aktif kadından (86'sı hamile) %11'i *M. hominis*, %44,75'i ise *U. urealyticum* ile kolonize bulunmuştur. Pozitifliğin seksüel partner sayısındaki artış ve kondom kullanılmaması ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (Bihari, 1997). Servikovajinal numune incelemelerinde 100 (%48,1) annenin ve bu annelerden doğan 40 yenidoğanın (%19,2) gastrik

sekresyonlarında genital mikoplazma izole edilmiştir. *U. urealyticum* prevalansı annelerde %47,6, *M. hominis* %11, yenidoğanda sırasıyla %19,2 ve %1 olarak saptanmıştır. İnfertil 326 kadından 56'sında *U. urealyticum*, 235 kadının 5'inde *M. hominis* izole edilmiştir (Witkin ve ark., 1995).

1.7. Oluşturduğu İnfeksiyonlar

Mikoplazmaların doğada çok yaygın olarak görülmeleri ve insanlarda başlıca oral- genital mukozada yerleşmeleri, her zaman gerçek bir infeksiyon etkeni olup olmadıklarının sorgulanmasına yol açmıştır (Gerçeker, 1999, Güçlüer, 2007). İnsan genital sistem infeksiyonlarından sorumlu olan ve en sık gözlenen mikoplazmalar, *M. hominis* ve *U. Urealyticum* olarak bilinmektedir. Oluşturduğu infeksiyonlar, non - gonokokal üretrit, lohusalık ateşi, korioamniyonit, spontan düşükler, pelvik inflamatuvar hastalık, prostatit, epididimit, sistemik lupus eritematosus, piyelonefrit, tekrarlayan gebelik kayıpları, infertilite olguları, yeni doğanda pnömoni ve menenjit olarak sayılabilir (Waites ve ark., 2009).

İnsanlarda mikoplazma sıklıkla, taşıyıcılar arasında direkt temas ile bulaşabilir. Bu nedenle cinsel yolla bulaşabilen bir hastalık olarak kabul edilmektedir. Genital-genital ya da oral-genital temas bu mikroorganizmaların bulaşmasında en sık karşılaşılan yol olarak bilinmektedir (Altındış ve Tanır, 2001; Ekşi, 2006). Bir diğer nadir bulaşma yolu ise gebelik periyodunda veya doğumda kolonize anneden infanta, annenin ürogenital sisteminden, annenin kanından plasenta yoluyla, kolonize doğum kanalı ile ya da doğumdan sonra olarak bildirilmiştir. *M.hominis* hem anne kanından hem göbek kordon kanından ve hem de bebek kanından izole edilmiştir (Altındış ve Tanır, 2001; Betty ve ark., 2002; TINWEB, 2016; Waites ve ark., 2005). Doğum sırasında kolonize olan anneden doğan bebeklerde anneden bebeğe geçiş (vertikal bulaş) olabilir ve %18-55 arasında

görülmektedir. Bu mikroorganizma bebeğin omurilik sıvısına geçebilir. Hafif, sekelsiz ve klinik belirti göstermeyen menenjit veya kalıcı sekel oluşturan nörolojik hasar meydana gelebilir (Waites ve ark. 2005; <http://www.cinsel-hastaliklar.net>). Yenidoğanların genital mikoplazmalarla kolonizasyonu doğum esnasında annenin alt genital kanallarından bulaş sonucu oluşabilir ya da gebeliğin erken dönemlerinde uterustayken kolonize olabilirler (Judlin, 2009).

Mikoplazmaların, gebelikte plasentada bulunan zarlarda enfeksiyona neden olarak spontan düşük (abortus), tekrarlayan gebelik kayıpları, ölü ya da erken doğum, düşük ağırlıklı ve prematüre doğum olguları ile ilişkisi dikkat çekicidir (Daxboeck ve ark., 2005; Gödekman, 2004; Henrich ve ark., 1993; Kılıç ve ark., 2004). Nadiren sezeryan sonrası yara yerinde enfeksiyonlara da sebep olabilirler (Bilgehan, 1996; Boesen ve ark., 2001; Ekşi ve ark., 2006). Patai ve arkadaşları (1998) sezeryan sonrası gelişen ve birçok antimikrobiyal tedaviye yanıt vermeyen endometrit olgularında genital mikoplazma varlığı saptamışlardır. Fallop tüpü iltihabı görülenlerin yaklaşık %10'unda tüplerde ve rahim içinde *M.hominis* izole edilmektedir. Sezeryanla doğan bebeklerde *M.hominis* izole edilebilmekte ve bu uterustaki transplental bulaşın göstergesi olarak kabul edilmektedir (Diaz-Garcia ve ark., 2006; Eilers ve ark., 2007; Kenny, 2005). Yenidoğanların genital mikoplazmalarla kolonizasyonu doğum esnasında annenin alt genital kanallarından bulaş sonucu oluşabilir yada gebeliğin erken dönemlerinde uterustayken kolonize olabilirler (Judlin, 2009; Waites ve ark., 2005).

Mikoplazma enfeksiyonları çok nadir olarak cinsel ilişki dışında etkilenmiş materyale temas ile de bulaşabilir (Afacan ve ark., 2007; Altındış ve Tanır, 2001). Sağlıklı bireylerde genital mikoplazma kolonizasyonu çocuk ve erişkin yaş gruplarında değişen sıklıkta mevcuttur. Avrupa ülkeleri ve Amerika için 50 yaşın altında genital mikoplazma kolonizasyon sıklığı 1/3–1/2 oranında değişmektedir (Afacan ve ark., 2007; Kılıç ve ark., 2004). Sağlıklı bireylerde gerek mikoplazmaların, gerekse de üreaplazmaların yüksek bir sıklıkla bulunmalarından

dolayı, bu mikroorganizmaların ilk bakışta Non-Gonokoksik Uretrit (NGU) etiolojisindeki yerleri kuşkuyla karşılanırsa da, belirli bir serovar ya da biyovaryın bu hastalıkla anlamlı bir ilişkisinin olup olmadığı bilinmemektedir (Hartmann, 2009; Murray ve ark.,2005). *M.hominis* ayrıca akut piyelonefrit semptomları olan hastaların üst idrar yollarından izole edilmiş ve bu hastalıklarda sıklıkla antikör yanıtı görülmüştür (Sarsar ve Aydın, 2010).

Mikoplazmalar, vajinite neden olmaz ancak *M.hominis*, bakteriyel vajinozlu (BV) hastalarda sıklıkla görülen çeşitli mikroorganizmalar arasındadır ve endometrit, Pelvis İnflamatuvar Hastalığı (PIH) ve salpenjite neden olabilir (Baczynska ve ark. 2004; Hill, 1993; Judlin, 2009). Bu şekilde üreme problemlerinin ortaya çıkabildiği bilinmektedir. Bu durum, diğer mikroorganizmaların da tabloya eşlik ettiği durumlarda daha belirgin olarak izlenmektedir. Özellikle bakteriyel vaginosis etkeni “*Gardnerella*” bakterisi ve diğer bakterilerin de ortama katılması durumunda pelvik infeksiyonlar daha da kötüleşmektedir (Daxboeck ve ark. 2005; Tekerekoğlu, 2010). *M.hominis* kısırlık (infertilite) problemlerine de neden olabilir ve konuyla ilgili yapılan çalışmalarda bulunmaktadır. Bahaabadi ve Naeima (2014) 100 infertil kadın ve 100 infertil erkek ile yaptığı çalışmada, kadınlardan alınan vajen sürüntü örneğinde *M.hominis* varlığını PCR yöntemiyle araştırmış ve 43 (%41,8) kadında pozitif bulmuştur. Seifoleslami ve arkadaşları (2015), 150 infertil hastadan ile 200 fertil hastadan alınan vajinal örnekleri kit yöntemiyle *M.hominis* açısından değerlendirmiş PCR analizi ile de doğrulamıştır. Çalışmaya dahil edilenlerin 11’inde (%3,14) *M.hominis* tespit edilmiştir.

Ureaplasma spp. ve *M.hominis* ergenliği takiben cinsel olarak aktif erişkinlerin çoğunun alt genital kanallarından izole edilebilir. Fakat bu bireylerden sadece bazılarında hastalığa neden olduğu bildirilmiştir. Ureaplazmalar daha sıklıkla rastlanan mikroorganizmalardır. *M. hominis* ve *Ureaplasma spp.*’nin etkeninin direkt olarak etkilenen bölgeden (fallop tüpü) kolaylıkla alınmaması veya mikroorganizmanın semptom göstermeyen bireylerden de elde edilebiliyor olması nedeniyle hastalığı tespit etmek zorlaşmaktadır. Ancak bu türlerin hem kadın hem

erkeklerin genital hastalıklarının etiyolojik etkeni olduğu bilinmektedir. *M. hominis*'in en sık oluşturduğu üriner infeksiyon tipi akut ve kronik tekrarlayıcı üretrit olarak bildirilmiş olup, nongonokoksik üretritlerin %20-50'sinde etyolojide yer almaktadırlar (Waites ve ark., 2005).

Gebelikte geçici immüsupresyon ve basıya bağlı mekanik etkilerle ürogenital infeksiyonlara sıkça rastlanmaktadır. *M. hominis*'e bağlı infeksiyonlar gebelerde normal insanlara nazaran daha çok görülmektedir. Vaginitis, servisit ve korioamnionitis sonucu erken membran rüptürü ve buna bağlı abortus, prematürite ve ölü doğumlar gelişebilir. Gebeliğin belli dönemlerinde semptomlu veya semptomsuz geçirilen mikoplazmal infeksiyonlar düşük kilolu bebek doğumuna yol açabilir. Postpartum ve postabortal sepsis, neonatal sepsis, neonatal menenjit diğer önemli komplikasyonlardır (Ekşi ve ark., 2006).

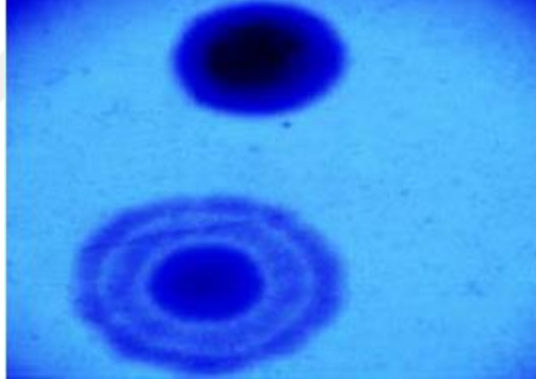
1.8. Tanı Yöntemi:

1.8.1. Kültür Yöntemi

Genital mikoplazmalar; vajinal, üretral ve servikal sürüntüler; dokular (endometriyal yıkama örnekleri ve biyopsiler, plasental veya amniyotik dokular, fetal veya abortus dokuları), uterus biyopsisi, fallop tüpü biyopsileri, yara biyopsisi, prostatik sekresyonlar, idrar, kan gibi çeşitli numunelerden izole edilebilir (Koneman ve ark., 2006). Mikoplazmaların mikoplazma türüne bağlı olarak arjinin, glikoz ve üre olmak üzere üç substratı kullandıkları bildirilmiştir. Bunlardan bir tanesinin zenginleştirilmiş besiyerlerine ilave edilmesi ile değerlendirme yapılmaktadır (Ekşi ve ark., 2006). Sürüntü örnekleri kalsiyum aljinat, plastik veya alimünyum saplı dakron veya polyester silgiçlerle alınmalıdır (Gerçeker, 1999; Koneman ve ark., 2006).

Mikoplazmalar, zor ve yavaş üreyen mikroorganizmalar oldukları için izolasyonu 7-20 gün arasında değişen sürelerde yapılabilmektedir. Mikoplazmaların üretilmeleri için çeşitli sıvı, katı ya da bifazik besiyeri formülleri mevcuttur. Ancak bunları hazırlamadaki zorluklar ve mikoplazmaların geç üremeleri gibi sorunlar nedeniyle izolasyon ve identifikasyonun daha hızlı ve kolay olmasını sağlayan hazır besiyerleri, polimeraz zincir reaksiyonu ve hibridizasyon gibi yöntemler geliştirilmiştir (Ekşi ve ark., 2006).

Hücre duvarları olmadığı için Gram boyama yöntemi ile boyanamazlar. Karanlık alan mikroskopisi, Giemsa boyama, agar fiksasyon metodu ve Dienes boyama metodu ile tespit edilebilirler. Agar fiksasyon yöntemi ile üreme olan besiyeri boyanmaktadır (Şekil 1.9) (Murray ve ark., 2005; Shankar ve ark., 2005).



Şekil 1.9: Dienes boyası ile agar fiksasyon yöntemi (Shankar ve ark., 2005).

Mikoplazmaların sıvı besiyerine ve agar besiyerine ekimi yapılırken transporttaki örneğin 0,1-0,2 mL'si ile inokülasyon yapılmaktadır (Winn ve ark., 2005). Üreme olmuş sıvı besiyerinde renk değişimi gözlenirken, katı besiyerinde 7-20 günlük inkübasyon sonrasında çok sayıda küçük koloni oluşumu izlenmektedir. Üremeleri için uygun ısı 37°C, pH 6-8 olup %5 - 10 CO₂'li ortam gerekmektedir (Baum, 2005).

1.8.2. Kültür Dışı Yöntemler

1.8.2.1. Serolojik Tanı

M. hominis infeksiyonlarının tanısı için serolojik metodlar araştırılmış olup, hücre yüzey proteinlerin büyük bir kısmını lipid ilişkili membran proteinlerinin (LAMP'lar) oluşturduğu saptanmıştır. LAMP'lar yüzey antijeni özelliğine sahiptir ve mikoplazmalara karşı immün yanıt için ana hedefi oluşturmaktadırlar. LAMP'lar *M. salivarum*, *M. penetrans*, *M. pirum* ve *M. genitalium* dahil birkaç mikoplazma türünde tanımlanmıştır. Bu antijenler, hastada infeksiyonun çeşitli tiplerini tespit etmek amacıyla serolojik kitlerde kullanılmaktadır. LAMP antijenlerine karşı oluşan antikorların özgül olduğu ve diğer türlerle çapraz reaksiyon vermediği gözlenmiştir (Lo ve ark., 2003). LAMP antijenlerine karşı oluşan antikorlar *M. hominis*'in serotiplerinin gösterilmesinde kullanılmıştır. 2003 yılında yapılan çalışmada 14 farklı *M. hominis* suşunun antijen ve antikor profilleri, sodyum dodesil sülfat-poliakrilamid jel elektroforez (SDS-PAGE) ve Western Immunoblot yöntemleriyle karşılaştırılmış ve bu 14 suşun LAMP'larının benzer SDS-PAGE profilleri göstermiş olduğu saptanmıştır. Hasta serumundan immunoblot analizi yapılabilmesi ise bunların yüksek immünolojik özellikte olduğunu göstermiştir. Aynı araştırmacılara ait bir diğer çalışmada ise, HIV'li 31 hastada LAMPs proteininin araştırıldığı ve 28 hastada *M. hominis*'in pozitif saptandığı görülmüştür. Bu çalışma *M. hominis* izolatlarının LAMP'ların *M. hominis*'e karşı hedef antijen gibi kullanılabilirliğini göstermiştir. CTBH (Cinsel Temasla Bulaşan Hastalıklar) kliniğine başvurmuş hastalardaki *M. hominis* tanısında, LAMP'ların hedef antijen olarak kullanıldığı Elisa yöntemleri tercih edilmektedir. (Lo ve ark., 2003; Winn ve ark., 2005).

1.8.2.2.Moleküler Tanı

İnsanlarda infeksiyona neden olan klinik olarak önemli tüm mikoplazma türleri için PCR sistemleri geliştirilmiştir (Schaeffer ve ark., 1997). *M. hominis* ve *U. urealyticum* için her iki mikroorganizmaya özgü 16S rRNA'nın hedef alındığı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR-PCR) ile tanı yapılabilmektedir. PCR'in duyarlılığının yüksek olduğu bilinmektedir. Saflaştırılmış DNA kullanıldığında tek bir organizmayı saptayabilecek duyarlılığa ulaşabilmektedir. PCR ayrıca daha önceden kültürle elde edilmiş bilinmeyen mikoplazmaların identifikasyonunda, tür içindeki farklı suşların tanımlanmasında ve antibiyotik direnç varlığı gibi spesifik karakterlerin araştırılmasında yararlı bir yöntem olarak kullanılabilir (Winn ve ark., 2005).

1.9. Tedavi Yöntemi

Mikoplazmalar peptidoglikan tabakaya sahip olmadıkları için penisilinler, sefalosporinler, vankomisin ve hücre duvar sentezini engelleyen diğer antibiyotiklere dirençlidirler. Bunların dışındaki antibiyotiklere direnç gelişimi ise kromozomal mutasyon veya transpozanlarla oluşmaktadır. (Koneman ve ark., 2006; Murray ve ark., 2005). Bu mikroorganizmalar folik asit sentezleyemedikleri için de, sülfonamidlere ya da trimetoprimine duyarlı değildirler. Bununla birlikte protein sentezini engelleyen tetrasiklinler gibi antibiyotiklere hassasiyetleri yapılan çalışmalarda gözlenmiştir. *M. hominis* suşlarının genellikle klindamisin ve linkomisine duyarlı, eritromisin ve diğer makrolidlere (azitromisin, klaritromisin gibi) dirençli oldukları bilinmektedir. *M. hominis* üremesi kloramfenikol, streptomisin ve gentamisin ile inhibe edilebilmektedir (Grattard ve ark.,1995; Küçükler, 1999; Waites ve ark., 2005). Furneri ve arkadaşları (2000) *M.hominis*'de makrolid direncinin genetik temelini 23S rRNA'daki peptidil transferazda ilmiik (loop) oluşturan gen mutasyonları olduğunu bildirmiştir.

M. hominis ve *Ureaplasma* türlerinden 1980' lerde tetrasiklin direncine neden olan tetM geni tespit edilmiştir. Genital mikoplazmalarda tetrasiklin direnç sıklığı muhtemelen coğrafya, antibiyotik baskısı ve cinsel yönden aktif çok eşli yetişkinler gibi faktörlerden etkilenmektedir (Roberts ve ark., 1985).

Bazı hastalıkların oluşumunda mikoplazmalarla birlikte diğer etkenler de olabilir ve buna bağlı olarak birden fazla etkeni inhibe eden ajanlar tercih edilmelidir. Örneğin non- gonokokal üretritte kullanılan tetrasiklin *Chlamydia trachomatis*, *M.genitalium* ve *U. urealyticum* için inhibe edici özelliktedir. Tetrasikline dirençli olgularda doksisisiklinin 100 mg'lık 7 günlük dozu önerilmektedir. Tetrasikline dirençli *M. hominis* suşlarında ise linkomisin, klindamisin veya ofloksasin gibi bir florokinolon tercih edilebilir. Azitromisin, Non-gonokokal üretrit başta olmak üzere *C.trachomatis* de dahil diğer infeksiyonlarda mikoplazmalar üzerinde etkili ve geniş kullanıma sahip olduğu bilinmektedir. Eğer mikoplazmanın neden olduğu düşük hikayesi var ve sonrasında ateş tablosu gelişmiş ise tetrasiklin başlanması uygun olmaktadır. Eritromisin ise neonatal infeksiyonlarda ilk tercih edilen antibiyotik olarak bilinmektedir (Taylor, 2007).

Çalışmamızda, *M. hominis*'in farklı laboratuvar yöntemleriyle tespit edilmesi, cinsel yönden aktif olan kadınlarda görülme sıklığının araştırılması ve Türkiye için direnç profillerini belirlenmesi, mikoplazma infeksiyonlarının oranının belirlenerek oluşturduğu hastalıkların klinik öneminin vurgulanması ve genital infeksiyonların tanısında mikoplazmaların da düşünülmesinin sağlanamsı amaçlanmıştır. Bahsedilen hasta profilinde her hastadan alınan 2 farklı numune (vajen ve idrar) arasındaki *M.hominis* tespit oranlarını belirleyerek, numunelerdeki *M.hominis* varlığının yöntemler arası uyumluluk ve tutarlılık durumlarının ortaya konması hedeflenmiştir.

2. GEREÇ VE YÖNTEMLER

2.1.Örneklerin Temini ve Saklanması

Çalışmamızda; Mart 2015- Şubat 2016 tarihleri arasında Başkent Üniversitesi Ankara Hastanesi Kadın Doğum Kliniğine başvuran cinsel yönden aktif kadınlardan uzman doktorun uygun gördüğü akıntı ve ağrı şikayeti olan 40, şikayeti olmayan 40 ve kontrol grubu olarak belirlenen 30 olmak üzere toplamda 110 kadından alınan idrar ve vajen sürüntü örnekleri kullanılmıştır. Alınan 220 örneğin uygun transport besiyerine konularak +4°C de muhafaza edilmesi sağlanmıştır. Örneklerin 24 saat içerisinde klasik besiyerine ve kitlelere ekimleri tamamlanmıştır. Tüm örnekler DNA izolasyonu ve PCR analizi için ependorf tüplerinde -80°C de saklanmıştır. ATCC 15488 nolu *M.hominis* suşu kontrol suşu olarak çalışmaya dahil edilmiştir.

2.2. Araştırmada Kullanılan Besiyerleri ve Sarf Malzemeler

Mycoplasma Agar Besiyeri (Oxoid)

Besiyeri İçeriği g/L	g/litre
Bakteriyolojik pepton	10.0
`Lab-Lemco' toz	10.0
Sodyum klorür	5.0
Mineral supplement	0.5
Agar	10.0
pH 7.8 ± 0.2 25°C	

Mycoplasma Supplement-G (Poison-Contains Thallium Salt)

Her bir şişede 80 mL' lik besiyeri içeriği	Her şişe	litre
At serumu	20.0 mL	200.0 mL
Maya ekstraktı (25% w/v)	10.0 mL	100.0 mL
Thallos asetat	25.0 mg	250.0 mg
Penisilin	20,000IU	200,000IU

1 L distile suya 35,5 gram Mycoplasma Agar Besiyeri eklenir. Kaynama işlemi gerçekleştikten sonra 80 mL'lik şişelere bölünür. pH 7,0-7,5 olarak ayarlanır. 121°C de 15 dk. otoklavda sterilize edilir. 50°C ye soğutulduktan sonra 1 şişe Mycoplasma Supplement G 80 mL'lik besiyeri içerisine aktarılır ve petrilere paylaşılır.

Ticari Kitler

Çalışmamızda, piyasada mevcut iki farklı ticari kit olan Mycoplasma IES– (KİT 1) (Autobio-Çin) ve Mycoplasma IST-2 (KİT 2) (Biomerieux-Fransa) kitleri paralel olarak kullanılmıştır. Bu kitler ile *M.hominis* ve *U.urealyticum* varlığı tespit edildikten sonra mikroorganizmaların antibiyotiklere karşı duyarlılıklarına bakılmıştır.

KİT 1 İçeriği:

- Strip: Her biri 30 kuyucuk içeren toplam 20 strip içerir.
- Liyofilize Besiyeri: 1,2 mL beef heart infusion ve bovine orijinli pepton içeren 20 şişe.
- Diluent: Liyofilize tozları çözmek amacıyla her biri 4 mL solüsyon içeren 20 şişe.
- Mineral Yağ 28 mL likit parafin içeren 1 şişe

KİT 2 İÇERİĞİ

REF 42 505: 25 testlik kit

Reaktif (R1): Mikoplazma hazırlama 25 x 3.1 mL şişe

Reaktif (R2): Urea-Arginine buyyon 25 x 1 mL şişe (liyofilize)

Reaktif (R3): 22 testlik 25 strip

İnkübasyon kapakları: 25 adet

Polimeraz Zincir Reaksiyonunda Kullanılan Besiyeri ve Sarflar

DNA İzolasyon Kiti

1. 2 mL'lik toplama tüpü içinde Mini Spin Columns
2. 2 mL toplama tüpleri
3. Wash Buffer I
4. Wash Buffer II
5. Digestion Solüsyonu
6. Proteinaz K Enzimi
7. RNAz Enzimi
8. Lizis Solüsyonu
9. Elution Buffer

Amplifikasyon kiti:

1. 10 x Taq Buffer (KCl)
2. MgCl
3. Taq Polimeraz Enzimi
4. dNTP

5. 335 bp ve 173 bp'lık Primer F
6. 335 bp ve 173 bp'lık Primer R

Jel Elektroforez Agar:

1. Agaroz
2. 10 x Tris-boric asid-EDTA (TBE)
3. Ethidium Bromide Solution
4. 5x Go Taq Flexi

Boyalar

Bovine fiksativi

1. Pikrik Asit.....150 mL
2. Formaldehit (%40).....50 mL
3. Glasiyel Asetik Asit.....10 mL

Dienes Boyası

1. Azure II.....1,25 g.
2. Metilen blue.....2,5 g.
3. Maltoz.....10 g.
4. Na₂CO₃.....0.25 g.
5. Benzoik Asid.....0.2 g.
6. Distile Su.....100 mL

2.3. Araştırmada Kullanılan Ekipmanlar

- Hereous marka Etüv 37°C
- Fine Vorteks
- Bilser Biosafety Cabinet Class II
- Hirayama Otoklav
- ESCO Lexicon ULT Freezer
- Olympos Tokyo Doku Kültürü Mikroskobu
- ThermoEC Midcell Primo Elektforez Jel Sistem
- Biorad T100 Thermal Cyclers
- Gene Genius Bio İmaging System
- ND-1000 NanoDrop Cihazı
- Thermo Scientific Santrifüj

2.4. Yöntem

2.4.1. *Mycoplasma hominis* Tespit Yöntemi

1. Her hastadan alınan vajen ve idrar örnekleri iki farklı kitin transport besiyeri içerisinde laboratuvara getirilerek 0,5'er mL ependorf tüplerine PCR analizinde kullanılmak üzere aktarılmış ve -80°C'de saklanmıştır.
2. Ayrıca her bir numune için iki farklı transport besiyerinden 2'şer mL alınarak kitlere ait olan liyofilize besiyerlerine inoküle edilmiştir. Liyofilize besiyerleri vorteklenerek kit plaklarındaki kuyucuklara 10 µL olacak şekilde aktarılmıştır. Liyofilize besiyerleri ve kit plaklar 37°C lik etüvde 24-48 saatlik inkübasyona bırakılmıştır. 48 saatlik inkübasyonun periyodunun sonunda *M.hominis* kuyucuğunun besiyeri rengi sarıdan koyu pembeye dönmüş olan örnekler pozitif kabul edilmiştir.
3. Eş zamanlı olarak Mycolasma Agar besiyerine ekim yapılmış ve desikatör içerisinde 37°C' lik etüvde inkübasyona bırakılmıştır. 20 günlük inkübasyon

periyodunun sonunda besiyerinde toplu iğne başı görünümü veren plaklar Olympos Tokyo Doku kültürü mikroskopunda incelenmiş ve türe özgü sahanda yumurta görünümü izlenmiştir. Ayrıca bu plaklardan bisturi yardımı ile kolonilerin olduğu bölgeden kesitler alınarak bowine fiksatif ile lam üzerinde fikse edilmiştir ve 24 saat oda sıcaklığında bekletilmiştir. Süre sonunda Dienes boyası ile boyanarak mikroskopta incelenmiş ve mavi renkli koloni gözlenen örnekler pozitif kabul edilmiştir.

4. Klasik Besiyeri ve Kitlerle yapılan çalışmalar sonucunda her bir hasta için vajen ve idrarda farklı sonuçlar veren örnekler ile kitler arasında farklılık gösteren örnekler PCR analizi ile doğrulanmıştır. Bunun için öncelikle DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir.

2.4.2. Klasik Kültür Yöntemi ile *M.hominis* Tespiti

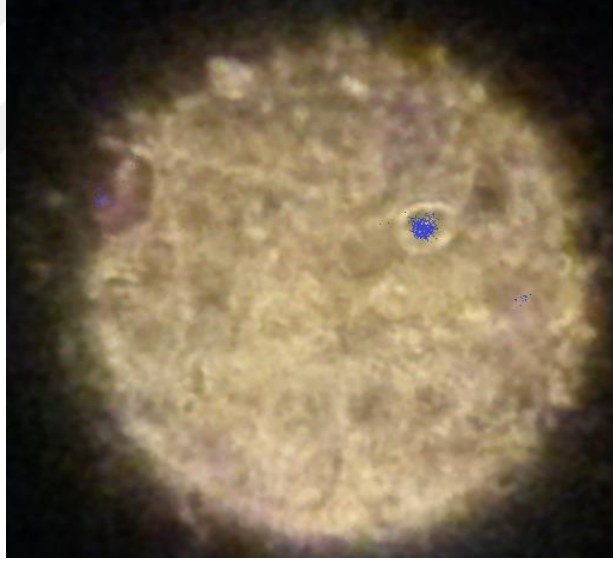
Mycoplasma Agar besiyeri hazırlandıktan sonra, mikroorganizmanın üremiş olduğu sıvı besiyerinden 1 mL alınarak agara yayma yöntemiyle ekimi gerçekleştirilmiştir. Ekim yapılmış petriler desikatör içine alınmış ve desikatör 37°C 'lik etüvde inkübasyona bırakılmıştır. 7-20 günün sonunda besiyerinde toplu iğne başı büyüklüğünde ve görünümünde üreme makraskobik olarak gözlenmiştir. Oluşan koloniler doku kültürü mikroskopunda incelenerek *M.hominis*'e ait tipik sahanda yumurta görünümü gözlenmiştir.

2.4.2.1. Boyama Yöntemi:

M.hominis saptanmış olan besiyerindeki kolonilerden 1 cm²' lik agar bloklar kesilerek, Bowin fiksatif damlatılmış lam üzerine ters çevrilmiş bir şekilde yerleştirilmiş ve 24 saat süresince oda sıcaklığında bekletilerek fikse olması sağlanmıştır (Şekil 2.1.). 24 saatin sonunda agar blok lam üzerinden kaldırılmış ve fikse olan *M.hominis* kolonileri Dienes boyası ile boyanarak ışık mikroskopunda 10x40 büyütmede mavi renkte gözlenmiştir (Şekil 2.2.).



Şekil 2.1. Bowin fiksativini ile fikse edilmiş *M.hominis* agar plağı



Şekil 2.2. Dienes boyası ile boyanmış *M.hominis*

2.4.3. Ticari Kit Yöntemi ile *M.hominis* Tespiti

Çalışmaya alınan örnekler KİT 1 ve KİT 2 kullanılarak *M. hominis* varlığı yönünden araştırılmıştır.

KİT 1 ile Tespit Yöntemi

Test, *U. urealyticum* için üre hidrolizi ve linkomisin direncine, *M. hominis* için arjinin hidrolizi ve eritromisin direncine dayanır. İki türün de üremesi pH indikatörünün renginin turuncumsu sarıdan kırmızı veya pembeye dönmesiyle gözlenir.

Numune Toplanması

Bu testte vajinal örnekler ve idrar örnekleri ile çalışılmıştır.

1. Numuneler vaginal sekreyonlardan steril swap ile ve steril kaplara idrar numunesi olarak alınmıştır.
2. Vajen numune örnekleri dilüent ile, idrar örnekleri ise steril kaplarda laboratuvara ulaştırılmıştır.

Test Prosedürü

1. Vajen sürüntü örneğinin alındığı dilüentin tamamı toz besiyerine eklenmiştir. Pelletin tamamen çözülmesini sağlamak amacıyla iyice çalkalanmış ya da vortekslenmiştir.

2. İdrar örneğinde ise, 500 µL idrar numunesi dilüente alınmış, karışım besiyerinin tamamına ilave edilerek karışması sağlanmıştır.
3. Karışım besiyerinden 100 µL her bir kuyucuğa ilave edilmiştir. Karışımın kuyucuklar içerisinde bulunan antibiyotiklerle karışması sağlanmıştır.
4. Her bir kuyucuğun üzerine 1 damla mineral yağ damlatılmıştır.
5. Sistemin ağzı kapatılarak 36-38°C'de 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır.

Sonuçların Yorumlanması

1. C- kuyucuğu her zaman negatif olmalıdır. Kuyucukta bir üreme görülürse; olası bir kontaminasyondan dolayı test geçersizdir. Test farklı kit ile tekrarlanmalıdır.
2. Sonuçlar kuyucuklardaki renk değişikliklerine göre okunmuştur. Besiyeri renginin kırmızı veya parlak pembeye (alkalin pH) dönmesi ürogenital mikoplazma üremesini gösterir. Ürogenital mikoplazma üremesi yoksa besiyeri rengi turuncumsu sarı olarak kalır veya sarıya döner.

KİT 2 ile Tespit Yöntemi

KİT 2 ile yapılan çalışmalar 24-48 saatlik inkübasyonlar sonucunda sıvı besiyeri şişesindeki ve kuyucuklardaki renk değişimine bağlı olarak mikroorganizma varlığı ve antibiyotik duyarlılığının belirlenmesi ile gerçekleştirilmektedir. Sonuçlar sarı renkte negatif, turuncudan kırmızıya kadar değişen yoğunluktaki renk skalasında ise pozitif olarak değerlendirilmiştir.

Numune Toplanması ve Hazırlanması:

Bu testte vajinal örnekler ve idrar örnekleri ile çalışılmıştır.

1. Numuneler vaginal sekreyonlardan steril swap ile ve steril kaplara idrar numunesi olarak alınmıştır.
2. Vajen numune örnekleri dilüent ile, idrar örnekleri ise steril kaplarda laboratuvara ulaştırılmıştır.

Test Prosedürü

1. Toplamadan sonra, R1 solüsyonuna, sıvı (200 uL) numune veya swab hemen yerleştirilmiştir.
2. İnokülasyon gerçekleştirilmiş 3 mL' lik R1 solüsyonundan R2 şişesine transfer edilmiştir.
3. Liyofilize pelletin tamamıyla eridiğinden emin olacak şekilde iyice vorteksle çalkalanmıştır.
4. 55 uL buyyonu stripteki küpüllerin 22 testinin herbirine (R3) dağıtılmıştır.
5. Sonra her küpüle 2 damla mineral yağ ilave edilmiş ve strip kapağı kapatılmıştır.
6. R2 şişesinde kalan buyyon ve stripi 36°C ± 2°C de 24 ve 48 saat inkübasyona bırakılmış ve sonuçlar yorumlanmıştır.

2.4.4. PCR Yöntemi ile *M.hominis* Tespiti

PCR (Polymerase Chain Reaction), yöntemi, basitçe tüp içerisinde nükleik asitlerin uygun koşullarda çoğaltılması prensibine dayanmaktadır. DNA' da bulunan, dizisi bilinen iki segment arasındaki spesifik bir bölgeyi enzimatik olarak çoğaltmak

için uygulanan tepkimelere verilen ortak bir isimdir. DNA'nın bir iplikçiği ile DNA polimeraz enziminin ve gerekli nükleotidlerin ortamda bulunması halinde, bu iplikçiğin birçok karşıt kopyalarının sentezletilebilme özelliğinden yararlanır. PCR; 94°C- 98°C aralığında gerçekleştirilen denatürasyon, 37°C- 65°C aralığında gerçekleştirilen annealing (tavlama) ve 72°C'de gerçekleştirilen uzama aşamalarından oluşmakta ve bu döngülerin belirli sayıda tekrarlanmasına dayanmaktadır.



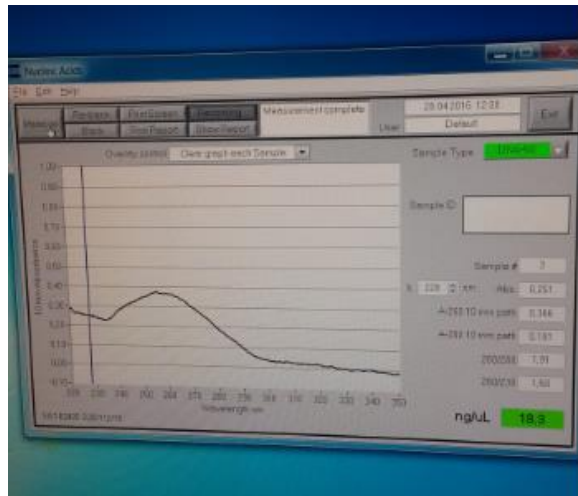
Şekil 2.3: Thermo cycler

2.4.4.1. DNA İzasyonu

DNA izolasyonunda, kullanılan kite (GeneJET Genomic DNA Purification Kiti, Thermo/ ABD) spesifik, üretici firma tarafından önerilen basamaklar izlenmiştir.

1. -80° C' den çıkarılan ependorf içerisindeki örneklerin oda sıcaklığına gelmesi sağlanmıştır.
2. Ependorflar 5000 g. (6980 rpm) de 10 dk. santrifüj edilmiştir.
3. Süpernatant uzaklaştırılmış ve çökelti 180 µL Digestion Solution ile süspansiyon edilmiştir.

4. 20 μL Proteinaz K eklenerek vorteksle iyice karıştırılmış ve 56°C 'de su banyosunda 30 dk. inkübe edilmiştir. İnkübasyon sırasında ara sıra vorteksleme işlemi gerçekleştirilmiştir.
5. İnkübasyon sonunda süspansiyon üzerine 20 μL RNAaz enzimi eklenip vortekslenmiş ve 10 dk. oda sıcaklığında bekletilmiştir.
6. 200 μL Lizis Solution ve 400 μL %50 lik etanol eklendikten sonra vortekslenmiştir.
7. Elde edilen karışım 2 mL'lik toplama tüpüne konulmuş mini spin kolonu içine pipetlenerek 6000 g (7320 rpm) de 1 dk santrifüj edilmiştir.
8. Mini spin kolon üzerine 500 μL Wash Buffer I eklenmiş ve 8000 g (8450 rpm) de 1 dk santrifüj edilmiştir
9. Santrifüj sonrası toplama tüpü boşaltılarak kolon üzerine 500 μL Wash Buffer II eklenmiş ve 12000 g (14000 rpm) de 3 dk santrifüj edildikten sonra toplama tüpü atılmıştır.
10. Mini spin kolonlar yeni ependorflara alınmış ve 50 μL Elüsyon tamponu eklenerek 8000 g (8450 rpm) de 1 dk. santrifüj edilmiştir. Bu işlem sonunda kullanıma hazır DNA ekstraktı elüe edilmiştir.
11. DNA ihtiva eden ependroflar Nanodrop cihazında okutulmuş ve DNA yoğunlukları ng/ μL olarak belirlenmiştir.



Şekil 2.4: Nanodrop DNA Yoğunluk Ölçümleri ng/ μL

2.4.4.2. Amplifikasyon

Kullanılan primerlerin dizileri ve gen ürünlerinin boyutları:

M. hominis' in 16S rRNA bölgesine ait 2 farklı amplicon ürünü elde edebileceğimiz 2 farklı primer çifti kullanılmıştır.

Primer Dizisi (5'-3') Amplicon boyutu genine ait 335 bp ve 173 bp ampliconların amplifikasyonu için;

C1-F	5 ¹ – CAA TGG CTA ATG CCG GAT ACG C – 3 ¹	335 bp
C1-R	5 ¹ – GGT ACC GTC AGT CTG CAA T – 3 ¹	ve
C2-F	5 ¹ – ATA CAT GCA TGT CGA GCG AG – 3 ¹	
C2-R	5 ¹ – CAT CTT TTA GTG GCG OCT TAC – 3 ¹	173 bp

Çizelge 2.1: 25 µL'lik PCR Analiz Karışımı

İçerik	Konsantrasyon	Final Konsantrasyon	µL
Taq Buffer (KCl)	10 (x)	1x buffer	2,5
MgCl ₂	25 µM	1,5 µM	1,5
dNTP	10 mM (her biri)	200 µM	0,5
Forward Primer	10 mM	0,5 µM	1,25
Reverse Primer	10 mM	0,5 µM	1,25
DNA			7,75
Distile Su			10
Taq Polimeraz	5 µ/ µL	1,25 µ	0.25
Son Hacim			25

Karışım tamamlandıktan sonra Thermal cyclera alınmıştır. Thermal cyclerde amplifikasyon program cetveli Çizelge 2.2' de gösterilmiştir.

Çizelge 2.2: Amplifikasyon Sıcaklık Döngüsü.

1 cycle	95° C 3 dk.
34 cycle	95° C 30 sn.
	58° C 40 sn.
	72° C 45 sn.
1 cycle	72° C 5 dk.

Basamak	Sıcaklık (°C)	Zaman (dk.)	Döngü Sayısı
Uzama 1	95	3	1
Uzama 2	95	30 sn.	34
Uzama 3	58	40 sn	34
Uzama 4	72	45 sn	34
İnaktivasyon	72	5	1

2.4.4.3. Agaroz Jel Elektroforezi

Agaroz jel elektroforezi, yüklü moleküllerin uygun ortam ve tamponlarda elektrik akımı uygulanarak yürütülmesi temeline dayanan elektroforez sistemlerinden biridir. Bu sistem, elde edilen nükleik asitlerin saflıkları ve boyutlarının belirlenmesi temeline dayanmaktadır. Bir diğer kullanım alanı ise, PCR sonrası elde edilen ürünün moleküler ağırlığının belirlenmesidir.

Saflaştırılmış olan nükleik asitlerin kontrolü, 80 V'luk elektrik akımlı TBE tampon ortamında yapılan elektroforez ile sağlanmıştır. TBE (Tris–Borik Asit–EDTA) tamponu, Çizelge 2.3’de belirtilen, DNA’ya bağlanma özelliği bulunan etidyum bromür içeren %2’lik agaroz jelde hazırlanmıştır. PCR ürünleri 5X Go Taq Flexi yükleme boyası ile karıştırılarak agaroz jeldeki kuyucuklara yüklenmiş ve örneklerin elektriksel ortamda anottan katoda hareketleri sağlanmıştır. Marker olarak ise Solis Biodyne Ready to load 0,1 µg/µL 50 µg 100 bp’lik aralıklara sahip 3000 bp’lik marker kullanılmıştır.

Çizelge 2.3: %2' lik AgaroZ Jel İçeriği

Tampon	Hazırlanan Stok	Malzeme	1 lt için
TBE	5X	Tris	54 g
		Borik Asit	27.5 g
		EDTA (0.5 M) pH 8.0)	20 mL

Elektroforez sonrası jeller VersaDoc görüntüleme sisteminde görüntülenmiştir (Şekil 2.5).



Şekil 2.5: VersaDoc Görüntüleme Sistemi

2.5. İstatistiki Ön Değerlendirme:

Çalışmamızda bir kadından, hem idrar hem vajen sürüntüsü üç farklı test ile incelenecek olduğundan, her kadından birden fazla ölçüm alınması düşünülmektedir. Bu nedenle bakteri varlığının değerlendirilmesinde, ölçümler arası bağımlılığın göz önüne alındığı Genelleştirilmiş Tahmin Denklemleri (Generalized Estimating Equations, GEE) kullanılacaktır.(Lipitsz ve ark. 1994). Kurulacak modelde, bakteri varlığı (var/yok) bağımlı değişken, grup (şikayeti olan, şikayeti olmayan ve kontrol), numune (vajen sürüntüsü ve idrar) ve yöntem (PCR, Hazır Ticari Kit ve Klasik Yöntem) ise bağımsız değişkenler olarak alınacaktır. Modelde bağımsız değişkenlerin ana etkileri ile etkileşimleri test edilerek modelden bulunacak odds oranları yorumlanacaktır. Buna ek olarak, mikroorganizma tespit yöntemleri arasındaki uyuma Kappa katsayısı ile bakılacaktır. Çalışmamızın, 65 olgu şikayeti olan (kasık ağrısı, vajinal akıntı, idrarda yanma, kısırlık..vb.) 65 olgu şikayeti olmayan (muayene sırasında belirti gözlenen grup) ve 40 olgu kontrol grubu (kadın doğum kliniğine başvurmuş herhangi bir şikayeti olmayan ve belirtiye rastlanmamış sağlıklı kadınlar) olmak üzere 170 olgu üzerinden yapılması planlanmaktadır. Örneklem büyüklüğü, üç yöntem arasındaki uyuma ilişkin kappa katsayısının hipotez testi yaklaşımı ile hesaplandı. Bu amaçla R v.3.0.0 programında “kappaSize” kütüphanesinde yer alan “PowerBinary” fonksiyonu kullanıldı. Örneklem büyüklüğü hesaplanırken yokluk hipotezindeki kappa katsayısı 0,10, alternative hipotezdeki kappa katsayısı 0,8, beklenen mikroorganizma görülme oranı 0,10, kritik alfa değeri 0,05 ve testin gücü 0,80 olarak alınmıştır. Üç grupta da (Şikayeti olan, Şikayeti olmayan, Kontrol) yöntemler arası uyumun aynı olacağı varsayıldığında, bir grup için alınması gereken örneklem büyüklüğü 26 olarak bulunmuştur.

Programda kullanılan kodlar ve program çıktısı:
>library(“kappaSize”)>PowerBinary(kappa0=0.1, kappa1=0.8, props=0.10, alpha=0.05, power=0.80).

3. BULGULAR

Çalışmamızda; Mart 2015- Şubat 2016 tarihleri arasında Başkent Üniversitesi Ankara Hastanesi Kadın Doğum Kliniğine başvuran ve uzman doktorun uygun gördüğü akıntı ve ağrı şikayeti olan 40, şikayeti olmayan 40 ve kontrol grubu olarak belirlenen 30 cinsel yönden aktif kadından olmak üzere toplamda 110 kadından idrar ve vajen sürüntü örnekleri alınmıştır. Çalışmaya alınan örneklerde ve ATCC 15488 *M.hominis* suşunda, üç farklı yöntem ile *M. hominis* mikroorganizması araştırılmıştır.

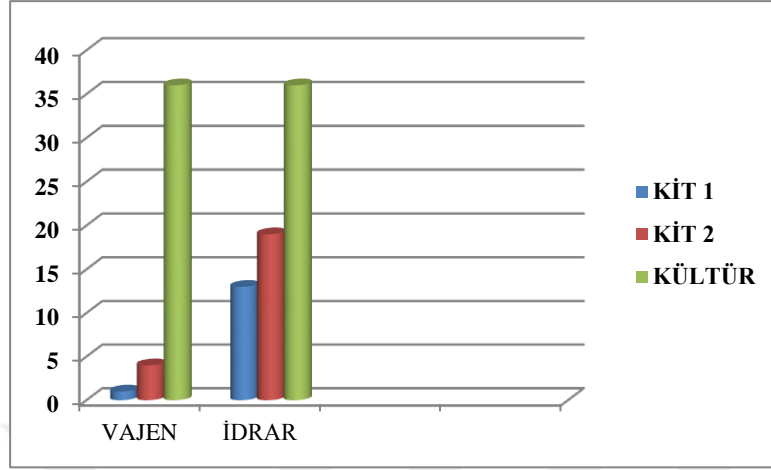
Öncelikle belli hastanelerden alınan 20 pozitif numune ve *M.hominis* ATCC 15488 suşu klasik besiyeri ve kitlerle çalışılmıştır. Klasik besiyerinde üretilen pozitif numunelerin kitlerle kontrolleri yapılmış ve daha sonra çalışmaya başlanmıştır.

Cinsel yönden aktif kadınlardan alınan örnekler, Mycoplasma Agar dehidre besiyeri kullanılarak klasik yöntem ile eş zamanlı olarak piyasada kullanılan ticari kitlerle çalışılmıştır. Sonrasında farklı pozitiflik veren tüm örnekler PCR yöntemi ile doğrulanmıştır.

Bu örnekler incelendiğinde, KİT 1 ile bakılan 110 idrar örneğininin 13'ünde, 110 vajen örneğinin 1'inde, KİT 2 ile ise 110 idrar örneğinin 16'sında negatif, 3'ünde pozitif olarak 19 farklı sonuç, 110 vajen örneğinin ise 4'ünde farklı sonuç tespit edilmiştir (Çizelge 3.1). Toplamda alınan 220 örneğin 37'sinde farklı sonuç görülmüş olup, 35'inde ise kitlerle ve klasik yöntemle uyumlu olarak hem vajen hem de idrarda *M.hominis* pozitif olarak bulunmuştur (Çizelge 3.2).

Farklı sonuç bulunan 37 örnek PCR analizine alınarak doğrulanması yapılmıştır. PCR sonuçlarına göre hepsi pozitif bulunmuştur (Çizelge 3.3.1). Sonuç

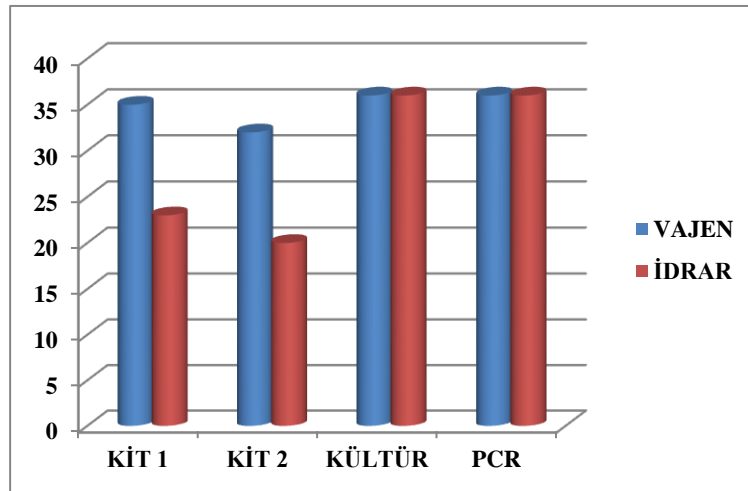
olarak, çalışmamızda 220 örnekten 72'sinde (110 hastadan 36'sı) (%32,7) *M.hominis* pozitif olarak tespit edilmiştir.



Şekil 3.1: Yöntemlere Göre Farklı Sonuçlar

Çizelge 3.1: Pozitif Örneklerin Numune ve Kit Türlerine Göre Dağılımı

Örnek Türü	Toplam örnek sayısı	KİT 1		KİT 2		Klasik		PCR	
		Pozitif	negatif	pozitif	negatif	pozitif	negatif	pozitif	negatif
Vajen	110	35 (%31)	1	32 (%29)	4	36 (%32)	0	36 (%32)	0
İdrar	110	23 (%20)	13	20 (%18)	16	36 (%32)	0	36 (%32)	0
Toplam	220	58 (%26)	14	52 (%23)	20	72 (%32)	0	72 (%32)	0



Şekil 3.2: Örnek Türüne Göre Sonuçları

Örneklerin dağılımına bakıldığında, toplamda 110 hasta arasından şikayeti olan 40 hastadan 21' i (%52,5), şikayeti olmayan 40 hastadan 11' i (%27,5) ve kontrol grubu 30 hastadan 4 (%13) ünde, toplam 36 hastada (%32,7) *M.hominis* saptanmıştır. Ayrıca bu hastalardan pozitifliği tespit edilmiş 25 hastanın tedavileri yapılmış ve tedavi bitiminden 1 ay sonra kontrole çağırılmıştır. Hastaların 18'i eşli tedaviye, 7'si ise tekli tedaviye alınmıştır. Sonuç olarak eşli tedaviye alınan hastalarda *M.hominis*' e rastlanmamış olup, tekli tedavi alan hastaların 5'inde (%20) *M.hominis* tekrar tespit edilmiştir.

Çizelge 3.2: Kültür Yöntemi, Kit ve PCR ile Yapılan Çalışma Sonuçlarına Göre Pozitif Hasta Sonuçları

Hasta Sayısı	Numune Sayısı	Numune No	Numune Türü	KİT 1	KİT 2	Agar Besiyeri	PCR
1	1	4	VS	+	+	+	+
	2	4	İD	-	+	+	+
2	3	7	VS	+	+	+	+
	4	7	İD	-	+	+	+
3	5	10	VS	+	+	+	+
	6	10	İD	-	+	+	+
4	7	11	VS	+	+	+	+
	8	11	İD	+	+	+	+
5	9	12	VS	+	+	+	+
	10	12	İD	+	+	+	+
6	11	13	VS	+	+	+	+
	12	13	İD	+	+	+	+
7	13	14	VS	+	+	+	+
	14	14	İD	-	-	+	+
8	15	20	VS	-	+	+	+
	16	20	İD	-	+	+	+
9	17	23	VS	+	+	+	+
	18	23	İD	-	+	+	+
10	19	27	VS	+	+	+	+
	20	27	İD	+	+	+	+
11	21	32	VS	+	+	+	+
	22	32	İD	+	+	+	+
12	23	34	VS	+	+	+	+
	24	34	İD	+	+	+	+
13	25	39	VS	+	+	+	+
	26	39	İD	-	+	+	+
14	27	40	VS	+	+	+	+
	28	40	İD	+	+	+	+
15	29	41	VS	+	+	+	+
	30	41	İD	+	+	+	+
16	31	43	VS	+	+	+	+
	32	43	İD	+	-	+	+
17	33	54	VS	+	-	+	+
	34	54	İD	-	-	+	+
18	35	56	VS	+	+	+	+
	36	56	İD	+	-	+	+

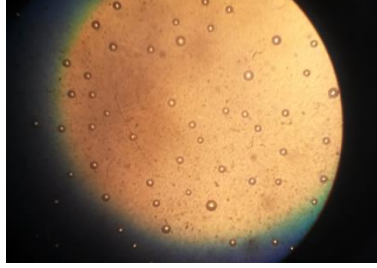
Çizelge 3.2. devamı (Kültür Yöntemi, Kit ve PCR ile Yapılan Çalışma Sonuçlarına Göre Pozitif Hasta Sonuçları)

19	37	61	VS	+	-	+	+
	38	61	İD	+	-	+	+
20	39	63	VS	+	+	+	+
	40	63	İD	+	-	+	+
21	41	70	VS	+	+	+	+
	42	70	İD	-	+	+	+
22	43	73	VS	+	+	+	+
	44	73	İD	-	-	+	+
23	45	75	VS	+	+	+	+
	46	75	İD	-	-	+	+
24	47	77	VS	+	+	+	+
	48	77	İD	-	-	+	+
25	49	80	VS	+	+	+	+
	50	80	İD	+	+	+	+
26	51	83	VS	+	+	+	+
	52	83	İD	+	-	+	+
27	53	84	VS	+	+	+	+
	54	84	İD	+	+	+	+
28	55	85	VS	+	-	+	+
	56	85	İD	+	-	+	+
29	57	86	VS	+	+	+	+
	58	86	İD	+	+	+	+
30	59	87	VS	+	+	+	+
	60	87	İD	+	-	+	+
31	61	96	VS	+	+	+	+
	62	96	İD	-	-	+	+
32	63	99	VS	+	-	+	+
	64	99	İD	+	-	+	+
33	65	100	VS	+	+	+	+
	66	100	İD	+	-	+	+
34	67	101	VS	+	+	+	+
	68	101	İD	+	-	+	+
35	69	102	VS	+	+	+	+
	70	102	İD	+	+	+	+
36	71	103	VS	+	+	+	+
	72	103	İD	+	+	+	+
		ATCC		+	+	+	+

3.1. Klasik Besiyeri Yöntemi İle Yapılan Çalışma Sonuçları

Cinsel yönden aktif kadınlardan alınan 220 örnek (vajen ve idrar) Mycoplasma Agar besiyerine yayma yöntemiyle ekilmiş ve 37°C'lik etüvde desikatör içerisinde 7-20 gün süresince inkübasyona bırakılmıştır. Bu sürenin sonunda 72 örnekte üreme gözlenmiştir. Üremeler besiyerinde makroskopik olarak toplu iğne başı büyüklüğünde ve görünümünde görülmüştür. Oluşan koloniler doku

kültürü mikroskobunda incelenmiş olup, *M.hominis*'e ait tipik sahanda yumurta görünümü gözlenmiştir (Şekil 3.1.1)



Şekil 3.1.1: *M.hominis* kolonilerinin doku kültürü mikroskobundaki görüntüsü

3.2. Hazır Kit Yöntemi İle Yapılan Çalışma Sonuçları

Kadınlardan alınan örnekler kitlelere ait transportlara inoküle edilmiş ve transportlarda mevcut olan örnekler eş zamanlı olarak KİT 1 ve KİT 2'ye, her bir kuyucuğa 100 µL olacak şekilde ekilmiştir. Sonuçlar kuyucuklardaki renk değişikliklerine göre yorumlanmıştır. Kuyucuklardaki sarı renk kırmızı veya parlak pembeye dönmüş olan örneklerde *M.hominis* pozitif kabul edilmiştir.

24-48 Saatlik İnkübasyondan Sonra *M. hominis* identifikasyonu



Şekil 3.2.1: *M.hominis* pozitif (+) besiyeri



Şekil 3.2.2: *M.hominis* negatif (-) besiyeri



Şekil 3.2.3: KİT 1 Kültür stribinde *M. hominis* görüntüsü.



Şekil 3.2.4: KİT 2 kültür stribinde pozitif *M.hominis* görüntüsü

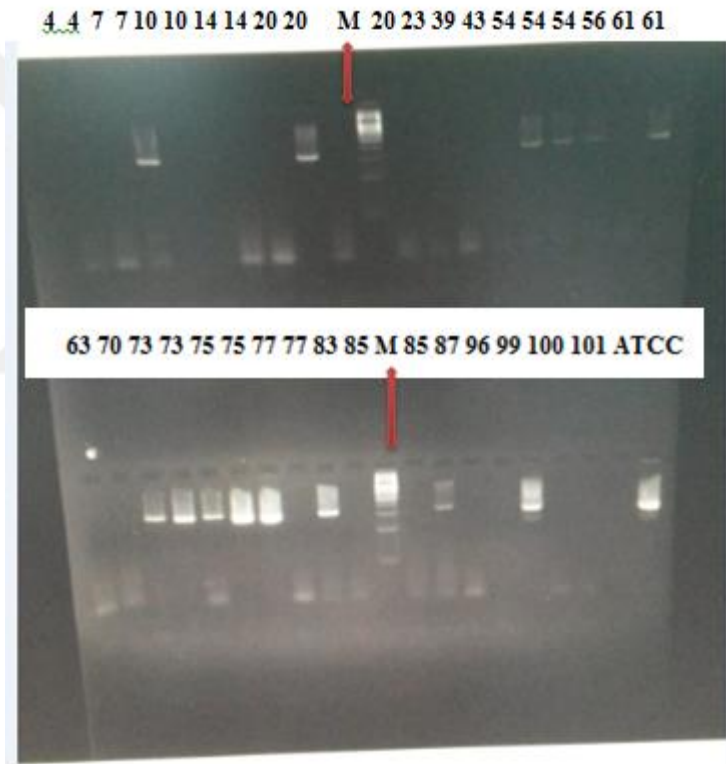
3.3. PCR Yöntemi İle Yapılan Çalışma Sonuçları

Klasik Yöntemle ve kitlerle paralel olarak çalışılan örneklerden farklı sonuç veren 37 örnek ve kültür ile pozitif bulunan 35 örnek PCR analizine alınmıştır. Farklı sonuç veren örneklerin PCR ile yapılan karşılaştırmalı çalışma sonuçları Çizelge (3.3.1) de gösterilmiştir.

Çizelge 3.3.1: Farklı Sonuçların PCR Sonuçları ile Karşılaştırılması

No	Numune No	Numune Türü	Mycoplasma IES Kiti	Mycoplasma IST-2 Kiti	PCR
1	4	İD	-		+
2	4	İD		+	+
3	7	İD	-		+
4	7	İD		+	+
5	10	İD	-		+
6	10	İD		+	+
7	14	İD	-		+
8	14	İD		-	+
9	20	VS	-		+
10	20	İD		+	+
11	20	ID	-		+
12	23	İD	-		+
13	39	İD	-		+
14	43	İD		-	+
15	54	VS		-	+
16	54	İD	-		+
17	54	İD		-	+
18	56	İD		-	+
19	61	VS		-	+
20	61	ID		-	+
21	63	VS		-	+
22	70	İD	-		+
23	73	ID	-		+
24	73	ID		-	+
25	75	İD	-		+
26	75	ID		-	+
27	77	İD	-		+
28	77	ID		-	+
29	83	ID		-	+
30	85	VS		-	+
31	85	İD		-	+
32	87	İD		-	+
33	96	ID		-	+
34	99	VS		-	+
35	99	ID		-	+
36	100	İD		-	+
37	101	İD		-	+
38	ATCC SUŞU				+

PCR aşamalarından DNA izolasyonu tamamlandıktan sonra örnekler Thermal cyclera alınmış, buradaki amplifikasyon program cetveline göre analizi gerçekleştirilmiştir. Amplifikasyon için 335 bp ve 173 bp olmak üzere iki baz çifti kullanılmıştır. Termal cyclere'dan çıkan PCR ürünü %2'lik 1x Tris-boric asid-EDTA (TBE) agaroz jelde elektroforez ile analiz edilmiştir. Oluşan bantlar kullanılan markera göre moleküler ağırlıkları bilinen bantlar ile karşılaştırılarak değerlendirme yapılmıştır. Şekil 3.3.1'de 335 bp'lik primer dizini ile yapılan analiz gösterilmiştir. Bu dizinde yalnızca 19 pozitif örnek tespit edilmiş olup Şekil 3.3.2.'de gösterilen 173 bp'lik dizinde 37 örnek de pozitif olarak tespit edilmiştir.



Şekil 3.3.1. 335 bp primerleri ile yapılan Jel Elektroforez Sonuçları

3.4. İstatistiki Değerlendirme

3.4.1. Tanımlayıcı İstatistikler

Çizelge 3.4.1. Tanımlayıcı istatistikler

Yöntem		Bakteri Yok	Bakteri Var	Toplam
Klasik	n	148	72	220
	% Yöntem	67,3%	32,7%	100,0%
PCR	n	148	72	220
	% Yöntem	67,3%	32,7%	100,0%
KİT 2 (IST)	n	168	52	220
	% Yöntem	76,4%	23,6%	100,0%
KİT 1 (IES)	n	162	58	220
	% Yöntem	73,6%	26,4%	100,0%
Toplam	n	626	254	880
	% Yöntem	72,0%	28,0%	100,0%

3.4.2. Genelleştirilmiş Tahmin Denklemleri (Generalized Estimating Equations,GEE).

Çizelge 3.4.2. Genelleştirilmiş Tahmin Modeli

Değişken	Odds oranı (OR)	Alt	Üst	p
Şikayeti var	7,944	5,541	11,391	p<0.001
Şikayeti yok	2,453	2,287	2,632	p<0.001
*Kontrol	1			
VS	1,357	,978	1,881	,073
*İdrar	1			
Klasik	1,420	1,394	1,445	p<0.001
PCR	1,420	1,394	1,445	p<0.001
KİT 2	,849	,842	,855	p<0.001
*KİT 1	1			

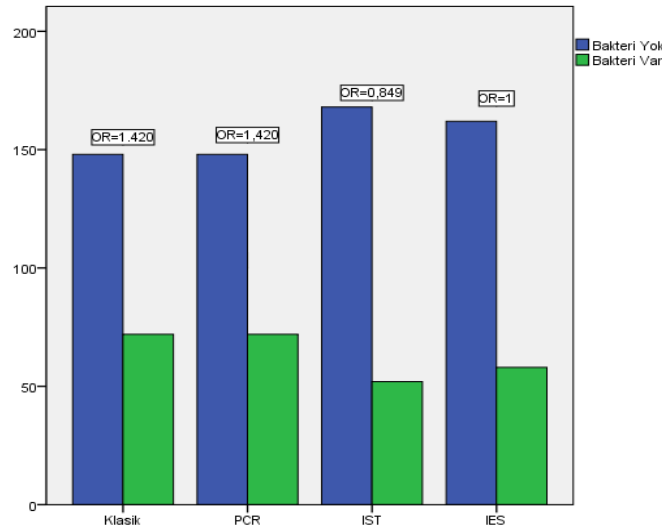
* referans kategori

Genelleştirilmiş tahmin denklemlerinde elde edilen modelde grup ve yöntem değişkenleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Odds oranlarını yorumladığımızda, bakteri olma olasılığı şikayetimi var diyenlerde, kontrol grubuna 7,944 kat daha fazladır ([5,541-11,391], $p<0,001$). Aynı şekilde şikayetimi yok

diyenlerde ise kontrole göre bakteri olma olasılığı 2,453 kat daha fazladır ([2,287-2,637], $p<0,001$).

Numune türünde, vajen sürüntüsünde bakteri olma olasılığı, idrara göre 1,357 kat daha fazladır ([0,978-1,881], $p<0,001$).

Klasik ve PCR yöntemlerinde bakteri olma olasılığı, KİT 1 yöntemine göre 1,420 kat daha fazladır ([1,394-1,445], $p<0,001$). KİT 2 yönteminde bakteri olma olasılığı KİT 1 yöntemine göre 0,849 kat daha fazladır ([0,842-0,855], $p<0,001$).



Şekil 3.4.2 Yöntemlerde bakteri varlığı ve Odds oranları (OR)

3.4.3. Yöntemlerin arasındaki uyum için Kappa Katsayısı

Kappa istatistiği ilk olarak Cohen (1960) tarafından önerilmiştir. Landis ve Koch (1977) uyumluluğun derecesine göre kappanın değerlerinin değişik aralıklarını tanımlamıştır. 0,75 veya daha büyük değerler; mükemmel uyumluluğu, 0,40 veya

daha altındaki değerler; zayıf uyumluluğu, 0,40 ve 0,75 arasındaki değerler; orta dereceli uyumluluğu gösterir.

Çizelge 3.4.3. Yöntemlerin Kappa uyum katsayısı

Yöntem		Bakteri Yok	Bakteri Var	Toplam
Klasik	n	148	72	220
	% Yöntem	67,3%	32,7%	100,0%
PCR	n	148	72	220
	% Yöntem	67,3%	32,7%	100,0%
KİT 2	n	168	52	220
	% Yöntem	76,4%	23,6%	100,0%
KİT 1	n	162	58	220
	% Yöntem	73,6%	26,4%	100,0%
Toplam	n	626	254	880
	% Yöntem	72,0%	28,0%	100,0%
Kappa Katsayısı= 0.834 p<0.001				

Mikroorganizma tespit yöntemleri arasındaki Kappa uyum katsayısı 0,834'dir ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Yöntemler arasında mükemmel bir uyum olduğu söylenebilir.

Çizelge 3.4.4. Klasik ve PCR yöntemlerinin uyum katsayısı

Klasik		PCR		Toplam
		0	1	
0	n	148	0	148
	Beklenen n	99,6	48,4	148,0
	% Klasik	100,0%	0,0%	100,0%
1	n	0	72	72
	Beklenen n	48,4	23,6	72,0
	% Klasik	0,0%	100,0%	100,0%
Toplam	n	148	72	220
	Beklenen n	148,0	72,0	220,0
	% Klasik	67,3%	32,7%	100,0%
Kappa Katsayısı= 1.000 p<0.001				

Klasik ve PCR yöntemleri aynı sonuçları verdiği için uyum katsayısı 1,000 çıkmıştır ve istatistiksel olarak uyum anlamlı bulunmuştur.

Çizelge 3.4.5. Klasik ve KİT 2 yöntemlerinin uyum katsayısı

Klasik		KİT 2		Toplam
		0	1	
0	N	148	0	148
	Beklenen n	113,0	35,0	148,0
	% Klasik	100,0%	0,0%	100,0%
1	N	20	52	72
	Beklenen n	55,0	17,0	72,0
	% Klasik	27,8%	72,2%	100,0%
Toplam	N	168	52	220
	Beklenen n	168,0	52,0	220,0
	% Klasik	76,4%	23,6%	100,0%
Kappa Katsayısı= 0.778 p<0.001				

Klasik ve KİT 2 yöntemi arasındaki kappa uyum katsayısı 0,778 olarak bulunmuştur ve istatistiksel olarak anlamlıdır.

Çizelge 3.4.6. Klasik ve KİT 1 yöntemlerinin uyum katsayısı

Klasik		KİT 1		Toplam
		0	1	
0	N	148	0	148
	Beklenen n	109,0	39,0	148,0
	% Klasik	100,0%	0,0%	100,0%
1	N	14	58	72
	Beklenen n	53,0	19,0	72,0
	% Klasik	19,4%	80,6%	100,0%
Toplam	N	162	58	220
	Beklenen n	162,0	58,0	220,0
	% Klasik	73,6%	26,4%	100,0%
Kappa Katsayısı = 0.848 p<0.001				

Klasik ve KİT 1 yöntemi arasındaki kappa uyum katsayısı 0,848 olarak bulunmuştur ve istatistiksel olarak anlamlıdır.

Çizelge 3.4.7. PCR ve KİT 2 yöntemlerinin uyum katsayısı

PCR		KİT 2		Toplam
		0	1	
0	N	148	0	148
	Beklenen n	113,0	35,0	148,0
	% PCR	100,0%	0,0%	100,0%
1	N	20	52	72
	Beklenen n	55,0	17,0	72,0
	% PCR	27,8%	72,2%	100,0%
Toplam	N	168	52	220
	Beklenen n	168,0	52,0	220,0
	% PCR	76,4%	23,6%	100,0%
Kappa Katsayısı= 0.778 p<0.001				

PCR ve KİT 2 yöntemi arasındaki kappa uyum katsayısı 0,778 olarak bulunmuştur ve istatistiksel olarak anlamlıdır.

Çizelge 3.4.8. PCR ve KİT 1 yöntemlerinin uyum katsayısı

PCR		KİT 1		Toplam
		0	1	
0	N	148	0	148
	Beklenen n	109,0	39,0	148,0
	% PCR	100,0%	0,0%	100,0%
1	N	14	58	72
	Beklenen n	53,0	19,0	72,0
	% PCR	19,4%	80,6%	100,0%
Toplam	N	162	58	220
	Beklenen n	162,0	58,0	220,0
	% PCR	73,6%	26,4%	100,0%
Kappa Katsayısı = 0.848 p<0.001				

PCR ve KİT 1 yöntemi arasındaki kappa uyum katsayısı 0,848 olarak bulunmuştur ve istatistiksel olarak anlamlıdır.

Çizelge 3.4.9. KİT 1 ve KİT 2 yöntemlerinin uyum katsayısı

KİT 2		KİT 1		Toplam
		0	1	
0	N	154	14	168
	Beklenen n	123,7	44,3	168,0
	% IST	91,7%	8,3%	100,0%
1	N	8	44	52
	Beklenen n	38,3	13,7	52,0
	% KİT 2	15,4%	84,6%	100,0%
Toplam	N	162	58	220
	Beklenen n	162,0	58,0	220,0
	% KİT 2	73,6%	26,4%	100,0%
Kappa Katsayısı= 0.734 p<0,001				

KİT 1 ve KİT 2 yöntemi arasındaki kappa uyum katsayısı 0,734 olarak bulunmuştur ve istatistiksel olarak anlamlıdır.

3.4.4. Grup değişkenine göre yöntemler arasındaki Kappa uyum katsayısı

Çizelge 3.4.10. Klasik ve KİT 2 yöntemlerinin grup değişkenine (Şikayet var) göre uyum katsayısı

Şikayet var		KİT 2		Toplam
Klasik		0	1	
0	n	38	0	38
	Beklenen n	20,0	18,1	38,0
	% n Klasik	100,0%	0,0%	100,0%
1	n	4	38	42
	Beklenen n	22,1	20,0	42,0
	% n Klasik	9,50%	90,5%	100,0%
Toplam	n	42	38	80
	Beklenen n	42,0	38,0	80,0
	% n Klasik	52,5%	47,5%	100,0%
Kappa Katsayısı= 0.900 p<0.001				

Şikayeti olan hastalarda, Klasik ve IST yöntemi arasındaki kappa uyum katsayısı 0,900 olarak bulunmuştur ve istatistiksel olarak anlamlıdır.

Çizelge 3.4.11. Klasik ve KİT 1 yöntemlerinin grup değişkenine (Şikayetim var) göre uyum katsayısı

Şikayetim var		KİT 1		
Klasik		0	1	Toplam
0	n	38	0	38
	Beklenen n	22,3	15,7	38,0
	% n Klasik	100,0%	0,0%	100,0%
1	n	9	33	42
	Beklenen n	24,7	17,3	42,0
	% n Klasik	21,4%	78,6%	100,0%
Toplam	n	47	33	80
	Beklenen n	47,0	33,0	80,0
	% n Klasik	47,0%	33,0%	100,0%
Kappa Katsayısı= 0.777 p<0.001				

Şikayeti olan hastalarda, Klasik ve KİT 1 yöntemi arasındaki kappa uyum katsayısı 0,777 olarak bulunmuştur ve istatistiksel olarak anlamlıdır.

Çizelge 3.4.12. KİT 1 ve KİT 2 yöntemlerinin grup değişkenine (Şikayetim var) göre uyum katsayısı

Şikayetim var		KİT 1		
KİT 2		0	1	Toplam
0	n	40	2	46
	Beklenen n	24,7	17,3	46,0
	% n IST	95,2%	4,8%	100,0%
1	n	7	31	34
	Beklenen n	22,3	15,7	34,0
	% n KİT 2	18,4%	81,6%	100,0%
Toplam	n	47	33	80
	Beklenen n	47,0	33,0	80,0
	% n KİT 2	58,8%	41,2%	100,0%
Kappa Katsayısı= 0.773 p<0.001				

Şikayeti olan hastalarda, KİT 1 ve KİT 2 yöntemi arasındaki kappa uyum katsayısı 0,773 olarak bulunmuştur ve istatistiksel olarak anlamlıdır.

Çizelge 3.4.13. Klasik ve KİT 2 yöntemlerinin grup değişkenine (Şikayetim yok) göre uyum katsayısı

Şikayetim yok		KİT 2		
Klasik		0	1	Toplam
0	n	58	0	58
	Beklenen n	50,0	8,0	58,0
	% n Klasik	100,0%	0,0%	100,0%
1	n	11	11	22
	Beklenen n	19,0	3,0	22,0
	% n Klasik	50,0%	50,0%	100,0%
Toplam	n	69	11	80
	Beklenen n	69,0	11,0	80,0
	% n Klasik	86,2%	13,8%	100,0%
Kappa Katsayısı= 0.592 p<0.001				

Şikayeti olmayan hastalarda, Klasik ve KİT 2 yöntemi arasındaki kapa uyum katsayısı 0,592 olarak bulunmuştur ve istatistiksel olarak anlamlıdır.

Çizelge 3.4.14. Klasik ve KİT 1 yöntemlerinin grup değişkenine (Şikayetim yok) göre uyum katsayısı

Şikayetim yok		KİT 1		
Klasik		0	1	Toplam
0	n	58	0	58
	Beklenen n	45,0	13,1	58,0
	% n Klasik	100,0%	0,0%	100,0%
1	n	4	18	22
	Beklenen n	17,1	5,0	22,0
	% n Klasik	18,2%	81,8%	100,0%
Toplam	n	62	18	80
	Beklenen n	64,0	18,0	80,0
	% n Klasik	77,5%	22,5%	100,0%
Kappa Katsayısı=0.867 p<0.001				

Şikayeti olmayan hastalarda, Klasik ve KİT 1 yöntemi arasındaki kapa uyum katsayısı 0,867 olarak bulunmuştur ve istatistiksel olarak anlamlıdır.

Çizelge 3.4.15. KİT 1 ve KİT 2 yöntemlerinin grup değişkenine (Şikayetim yok) göre uyum katsayısı

Şikayetim yok		KİT 1		
KİT 2		0	1	Toplam
0	n	61	8	69
	Beklenen n	53,5	15,5	69,0
	% n IST	88,4%	11,6%	100,0%
1	n	1	10	11
	Beklenen n	8,5	2,5	11,0
	% n KİT 2	9,1%	90,9%	100,0%
Toplam	n	62	18	80
	Beklenen n	62,0	18,0	80,0
	% n KİT 2	77,5%	22,5%	100,0%
Kappa Katsayısı= 0.626 p<0.001				

Şikayeti olmayan hastalarda, KİT 1 ve KİT 2 yöntemi arasındaki kappa uyum katsayısı 0,626 olarak bulunmuştur ve istatistiksel olarak anlamlıdır.

Çizelge 3.4.16. Klasik ve KİT 2 yöntemlerinin grup değişkenine (Kontrol) göre uyum katsayısı

Kontrol		KİT 2		
Klasik		0	1	Toplam
0	n	52	0	52
	Beklenen n	49,4	2,6	52,0
	% n Klasik	100,0%	0,0%	100,0%
1	n	5	3	8
	Beklenen n	7,6	,4	8,0
	% n Klasik	62,5%	37,5%	100,0%
Toplam	n	57	3	60
	Beklenen n	57,0	3,0	60,0
	% n Klasik	95,0%	5,0%	100,0%
Kappa Katsayısı= 0.510 p<0.001				

Kontrol grubu hastalarda, Klasik ve KİT 2 yöntemi arasındaki kappa uyum katsayısı 0,510 olarak bulunmuştur ve istatistiksel olarak anlamlıdır.

Çizelge 3.4.17. Klasik ve KİT 1 yöntemlerinin grup değişkenine (Kontrol) göre uyum katsayısı

Kontrol		KİT 1		
Klasik		0	1	Toplam
0	n	52	0	52
	Beklenen n	45,9	6,1	52,0
	% n Klasik	100,0%	0,0%	100,0%
1	n	1	7	8
	Beklenen n	7,1	,9	8,0
	% n Klasik	12,5%	87,5%	100,0%
Toplam	n	53	7	60
	Beklenen n	53,0	7,0	60,0
	% n Klasik	88,3%	11,7%	100,0%
Kappa Katsayısı= 0.924 p<0.001				

Kontrol grubu hastalarda, Klasik ve KİT 1 yöntemi arasındaki kappa uyum katsayısı 0,924 olarak bulunmuştur ve istatistiksel olarak anlamlıdır.

Çizelge 3.4.18. KİT 1 ve KİT 2 yöntemlerinin grup değişkenine (Kontrol) göre uyum katsayısı

Kontrol		KİT 1		
KİT 2		0	1	Toplam
0	n	53	4	57
	Beklenen n	50,4	6,7	57,0
	% n KİT 2	93,0%	7,0%	100,0%
1	n	0	3	3
	Beklenen n	2,7	,4	3,0
	% n KİT 2	0,0%	100,0%	100,0%
Toplam	n	53	7	60
	Beklenen n	54,0	6,0	60,0
	% n KİT 2	88,3%	11,7%	100,0%
Kappa Katsayısı= 0.570 p<0.001				

Kontrol grubu hastalarda, KİT 1 ve KİT 2 yöntemi arasındaki kappa uyum katsayısı 0,570 olarak bulunmuştur ve istatistiksel olarak anlamlıdır.

3.4.5. Numuneler Arası Uyum Katsayısı

Çizelge 3.4.19. 72 pozitif örneğin KİT 2' ye göre numune türleri arasındaki ilişkisi

		sütun		Total
		pozitif	negatif	Toplam
vajen	n	32 _a	4 _b	36
	% numune	88,9%	11,1%	100,0%
	% sütun	60,4%	21,1%	50,0%
	Artık	5,5	-5,5	
idrardan	n	21 _a	15 _b	36
	% numune	58,3%	41,7%	100,0%
	% sütun	39,6%	78,9%	50,0%
	Artık	-5,5	5,5	
Toplam	n	53	19	72
	% numune	73,6%	26,4%	100,0%
	% sütun	100,0%	100,0%	100,0%
Ki-kare değeri = 7.150 p= 0.007				

72 pozitif örneğin KİT 2' ye göre vajen ve idrardan alınan numune arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmuştur ($p < 0,01$). Numunelerden elde edilen değerlerin artıkları incelenmiş ve artık değerlerden en yüksek değer 2,5'in üzerinde ve en düşük değer ise -2,5 den küçük elde edilmiştir. Bu sonuçlarda iki numune arasındaki farklılığı gösterir. Benferonni düzeltmesi kullanılarak p değeri hesaplanmıştır.

Çizelge 3.4.20: 72 pozitif örneğin KİT 1 'e göre numune türleri arasındaki ilişkisi

		sütun		Toplam
		pozitif	negatif	
vajen	n	35 _a	1 _b	36
	% numune	97,2%	2,8%	100,0%
	% sütun	60,3%	7,1%	50,0%
	Artık	6,0	-6,0	
idrardan	n	23 _a	13 _b	36
	% numune	63,9%	36,1%	100,0%
	% sütun	39,7%	92,9%	50,0%
	Artık	-6,0	6,0	
Toplam	n	58	14	72
	% numune	80,6%	19,4%	100,0%
	% sütun	100,0%	100,0%	100,0%
Ki-kare değeri = 10.729 p= 0.001				

72 pozitif örneğin KİT 1'e göre vajen ve idrardan alınan numune arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmuştur ($p < 0,01$). Numunelerden elde edilen değerlerin artıkları incelenmiş ve artık değerlerden en yüksek değer 2,5'in üzerinde ve en düşük değer ise -2,5 den küçük elde edilmiştir. Bu sonuçlarda iki numune arasındaki farklılığı gösterir. Benferonni düzeltmesi kullanılarak p değeri hesaplanmıştır.

3.5. Antibiyotik Duyarlılıkları

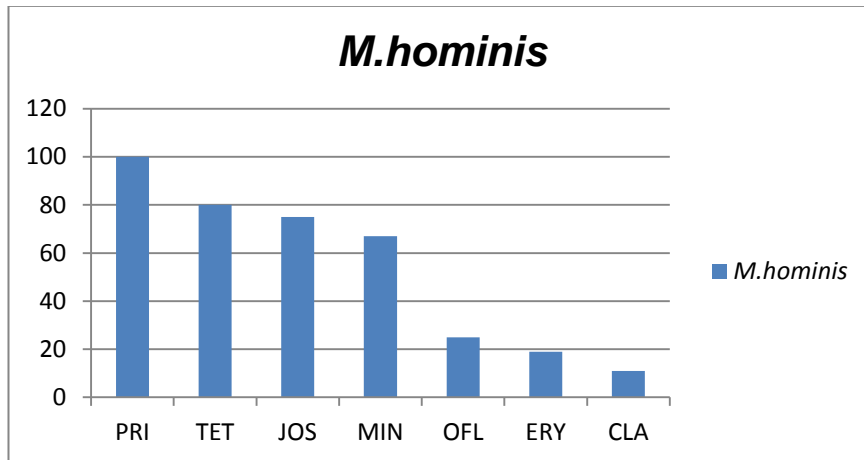
3.5.1. KİT 1 ile Antibiyotik Duyarlılıkları

KİT 1 ile 11 antibiyotik için duyarlılık bakabilmektedir (Çizelge 3.5.1). Duyarlılıklar renk değişimine göre değerlendirmeye alınmış olup 2 farklı konsantrasyona göre sonuçlar yorumlanmıştır.

Çizelge 3.5.1: KİT 1 Antibiyotikleri

No	Antibiyotik Adı ve Kısaltması	Konsantrasyonu mg/L		
1	Pristinamycin	PRI	2	
2	Minocycline	MIN	2	8
3	Josamycin	JOS	2	8
4	Erythromycin	ERY	8	16
5	Roxithromycin	ROX	1	4
6	Clindamycin	CLI	0.25	0.5
7	Ofloxacin	OFL	1	4
8	Ciprofloxacin	CIP	1	2
9	Clarithromycin	CLA	1	4
10	Tetracycline	TET ^{uu}	1	2
11	Levofloxacin	LEV ^{uu}	2	4
12	Tetracycline	TET ^{MH}	4	8
13	Levofloxacin	LEV ^{MH}	1	2

Cinsel yünden aktif kadınlardan izole edilen mikroorganizmaların KİT 1 ile yapılan antibiyotik duyarlılıkları değerlendirmeye alındı. Buna göre tüm suşlar içerisinde en büyük duyarlılık %100 ile pristinamisine karşı bulundu. Bunu takiben %80 tetrasiklin %75 josamisine bulundu. En yüksek direnç %100 ile levofloksasin %97 ile sırasıyla, klindamisin, roksitromisin ve %94 ile siprofiloksasinde görüldü. Bunu takiben % 81 eritromisin, %89 klaritromisine karşı direnç tespit edildi (Şekil 3.5.1)



Şekil 3.5.1: KİT 1 ile Antibiyotik Duyarlılık Dağılımları

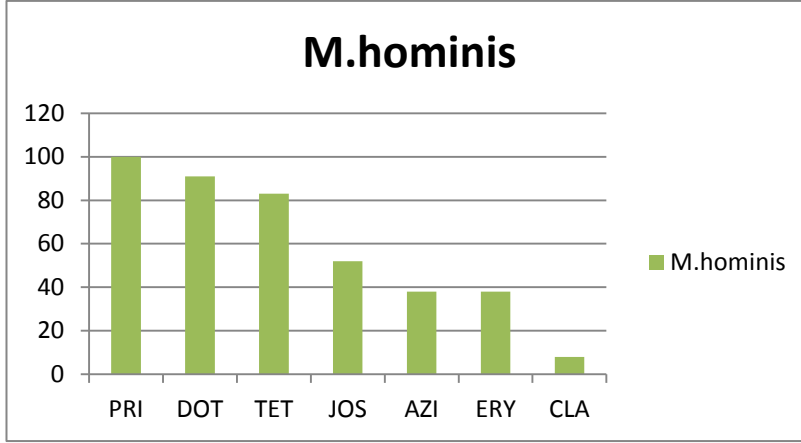
3.5.2. KİT 2 ile Antibiyotik Duyarlılıkları

KİT 2 ile 9 antibiyotik için duyarlılık bakabilmektedir (Çizelge 3.5.2). Duyarlılıklar renk değişimine göre değerlendirmeye alınmış olup 2 farklı konsantrasyona göre sonuçlar yorumlanmıştır.

Çizelge 3.5.2: KİT 2 Antibiyotikleri

No	Antibiyotik Adı ve Kısaltması	Konsantrasyonu mg/L
1	Doxycycline DOT	4 8
2	Josamycin JOS	2 8
3	Ofloxacin OFL	1 4
4	Erythromycin ERY	1 4
5	Tetracycline TET	4 8
6	Ciprofloxacin CIP	1 2
7	Azithromycin AZI	0.12 4
8	Clarithromycin CLA	1 4
9	Pristinamycin PRI	2

Cinsel yoldan aktif kadınlardan izole edilen mikroorganizmaların KİT 2 ile yapılan antibiyotik duyarlılıkları değerlendirmeye alındı. Buna göre tüm suşlar içerisinde en büyük duyarlılık %100 ile pristinamisine karşı bulundu ve bu sonucun KİT 1 ile uyumlu çıktığı görüldü. Bunu takiben, %91 doksisisiklin, %83 tetrasiklin, %52 josamisine karşı, en yüksek direnç %100 ile siprofiloksasine, %91 ile klaritromisine karşı bulundu. Eritromisin ve Azitromisine karşı direnç ise %89 olarak saptanmıştır (Şekil 3.5.2).



Şekil 3.5.2: KİT 2 ile Antibiyotik Duyarlılık Dağılımları



4. TARTIŞMA

Genellikle ürogenital sistemde kolonize olabilen *M.hominis*, cinsel yünden aktif birçok kadın ve erkeğin normal genital florasında bulunabilmekte (Fiengold ve Mansur, 2003; Nulens ve ark., 2016) ve vajinal sekresyondan, hamilelik sırasında amniyotik sıvıdan, plasenta dokusundan ve kordon kanından izole edilebilmektedir (Schwebke ve Weiss, 2001; Capoccia ve ark., 2013). Mikoplazma cinsel yolla bulaşabilen bir hastalık ajanı olarak kabul edilmekte ve oral-genital veya genital-genital temas bu mikroorganizmaların bulaşmasında en sık karşılaşılan yol olarak bilinmektedir (Koneman ve ark., 2006). Ayrıca kolonize olmuş annenin ürogenital sisteminden, doğum sırasında veya annenin kanından plasenta yoluyla, kolonize olmuş doğum kanalı ile ya da doğumdan sonra infanta geçebilmektedir. *M.hominis*' in birçok infeksiyonla ilişkili olarak çeşitli hastalıklara neden olduğu bilinmektedir (Pignanelli ve ark., 2015).

Ülkemizde rutin kontrolü olmayan bu mikroorganizma, birçok infeksiyonda etken olarak görülebilmekte, farklı bakterilerle bir araya geldiğinde ciddi tablolarla karşılaşılmasına neden olabilmektedir (Campos ve ark. 2015; Leli ve ark. 2013). Özellikle cinsel yünden aktif kadınlarda ve hamilelerde tespiti yapıp, tedavi edilerek kontrol altına alınmadığı durumlarda bebekte kalıcı hasarlar bırakabilmektedir. Bu noktadan hareketle, çalışmamızda *M.hominis* sıklığı, şikayeti olan, olmayan ve kontrol grubu olmak üzere cinsel yünden aktif 110 kadından alınan vajen ve idrar örnekleriyle, iki farklı kit, klasik kültür ve PCR yöntemleri kullanılarak belirlenmiş ve sonuçlar bu konuda yapılan çeşitli çalışmalarla karşılaştırılmıştır.

Türkiye'de; Altındış ve Tanır (2001) vajinal akıntı şikayeti olan kadınlarda *M. hominis* sıklığını belirlemek için 40 vajinal akıntılı kadından aldığı örnekleri hazır ticari kit ile çalışmış ve bunların 3'ünde (%7,5) *M.hominis* tespit etmiştir. Ekşi ve

arkadaşlarının (2006) vajinal akıntı şikayeti olan, cinsel yönden aktif 130 kadın hasta ve vajinal akıntı şikayeti olmayan sağlıklı 40 kadın ile yaptıkları çalışmada ise, hastaların endoservikal sürüntü örnekleri, ticari mikoplazma kültür kitiyle *M.hominis* açısından değerlendirilmiştir. Buna göre, 130 hastanın 7'sinde (%5,38) *M.hominis* tespit edilmiş, kontrol grubu olarak seçilen 40 kadında üreme görülmemiştir. Baksu ve arkadaşları (2005), jinekolojik muayenelerinde servisit saptanan 321 hastada *M.hominis* sıklığını ticari kültür kiti kullanarak araştırmışlar, 60'ında (%18,6) *M.hominis* pozitifliği bildirmişlerdir.

Yurtdışında ise; Rodrigues ve arkadaşları (2011), servikal sürüntü örneği aldıkları 224 kadında *M.hominis* varlığını araştırmışlar ve %21,9 olarak rapor etmişlerdir. Doğum yapmış, gebe ve gebe olmayan kadınların dahil edildiği ve bu kadınlardan alınan 300 vajinal sürüntü örneğinin incelendiği bir çalışmada; *M.hominis* sırasıyla %5, %12 ve %5 oranında saptanmıştır. Gebelerde genital mikoplazmaların artış gösterdiği görülmüştür (Cedillo-Ramírez ve ark., 2000). Gebeler ile yapılan diğer çalışmalarda ise *M. hominis* prevelansını, Luton ve arkadaşları (1994) %4, Cassell ve arkadaşları (1993) %20, Chua ve arkadaşları (1998) %17,7 olarak bildirmişlerdir. Biz, çalışma gruplarımızın oluşturduğu kadınların tamamından aldığımız vajinal örneklerde KİT 2 ile yaptığımız çalışmada, *M.hominis* sıklığını %29 olarak belirleyerek yapılan çalışmalardan daha yüksek oranda pozitif sonuç elde ettik. Bu durumun ortaya çıkmasında etkili olabilecek sebeplerden birinin doktor tarafından hastada gözlenen semptomlara göre örnek seçimi yapılmasından kaynaklı olabileceği düşünülmüştür. İrdelenen çalışmalar dikkate alındığında; gebeler ve cinsel yönden aktif semptomatik kadınlarda *M.hominis* prevelansı önemli ölçüde yüksek bulunmuştur ve antimikrobiyal ajanlara karşı direnç geliştirme eğiliminde olduğu gözlenmiştir. Güvenli bir gebelik ve kalıcı infeksiyonları engellemek için bu mikroorganizmanın tespitinin yapılması ve uygun antibiyotik tedavisinin kullanılması önem taşımaktadır.

Sobouti ve arkadaşlarının (2014) yaptığı bir çalışmada, 165 yenidoğandan alınan nazotrakeal ve farengeal örneklerde PCR ile *M.hominis* araştırması yapılırken

eş zamanlı annelerinden alınan vajinal örneklerde de *M.hominis* varlığı araştırılmıştır. Annelerde *M. hominis* oranı %15 (25/165), pozitif anneden yenidoğana geçme oranı %60 olarak tespit edilmiştir. Bu bilgilere göre, anneden yenidoğan bebeğine vertikal bulaşma olduğu saptanmış ve oranlara bakıldığında yenidoğana vertikal bulaşın prevelansı dikkat çekici bulunmuştur. Bu mikroorganizma bulaşması yenidoğanda ciddi infeksiyonlara neden olabileceği için gebelik periyodunda *M.hominis*'in tarama testleriyle tespiti, yenidoğanda infeksiyonu engellemek için önem taşımaktadır. Bu nedenle, gebe kadınlarda tarama testlerinin, gebelik sırasında ve öncesinde yaygınlaştırılmasının önemi vurgulanmıştır.

Yapılan çalışmalarda *M.hominis* sıklığının diğer hastalıklarla ilişkisi de araştırılmıştır. Hong ve arkadaşları (2002), pelvis inflamatuvar hastalığı (PID) olan 200 kadın ve şikayeti olmayan 155 kadından aldıkları servikal örnekleri, hazır ticari kit ile çalışmışlar ve hastaların 52'sinde (%26), kontrol grubunun 8'inde (%5,2) *M. hominis* tespit etmişlerdir. Çalışmada *M.hominis*'in PID ile istatistiksel olarak anlamlı bir ilişkisi olduğu bildirilmiştir. Zdrodowska-Stefanow ve arkadaşları (2006), ürogenital hastalıklı kadınlarda *M.hominis* sıklığını kültür yöntemiyle araştırmayı amaçladıkları çalışmalarında, 18-41 yaşları arasında cinsel yönden aktif, vajinit, servisit, üretral sendrom, PID, problemlili gebelik (düşük, erken doğum gibi), fertil yetmezlik ve epidemiyolojik nedenlerle jinekoloji ve cinsel temasla bulaşan hastalıklar kliniğine başvuran 541 kadından servikal ve üretral sürüntüler almışlar ve 20'sinde (%3,7) *M. hominis* izole etmişlerdir. Biz de, şikayeti olan, olmayan ve kontrol grubu olarak belirlediğimiz 110 kadından alınan vajen ve idrar örnekleri ile yaptığımız çalışmada, şikayeti olan 40 hastadan 21'inde (%52,5), şikayeti olmayan 40 hastadan 11'inde (%27,5) ve kontrol grubu 30 hastadan 4'ünde (%13), toplam 36 hastada (%32,7) *M.hominis* tespit ettik. Bulgularımız, her üç grup içinde birçok çalışmadan daha yüksek pozitiflik elde ettiğimizi göstermektedir. Bu farklı sonuçların *M.hominis* varlığını etkileyen etkenlerden bir diğeri olan çalışma grubuna bağlı olabileceği düşünülmüştür. İnsanlarda bu mikroorganizma kolonizasyonunun genç yaş, düşük sosyoekonomik statü, cinsel aktivite, partner sayısı, etnik köken ve doğum kontrol hapi kullanımı gibi faktörler ile farklılaşabildiği belirtilmiştir. Ancak

incelediğimiz hasta grubunda, *M.hominis*' in kolonizasyon sıklığında hangi faktörün daha etkili olduğunu bilmek zordur.

Çalışmamızda ayrıca, *M.hominis* ile birlikte *U.urealyticum* sıklığına da bakılmış olup, 110 kadından 53'ünde (%48,2) *U.urealyticum* bulunmuş ve *M.hominis* ile birlikte bulunma oranı %26,4 (29 hasta) olarak tespit edilmiştir. *M.hominis*'in *U.urealyticum* ile birlikte bulunduğu çalışmalarda farklı oranlar mevcuttur. Lee ve arkadaşları (2010) 84 kadından almış oldukları vajen ve idrar örneklerini hazır ticari kitlerle çalışmışlar ve %7'sinde, Bilir ve arkadaşları (2011), ürogenital infeksiyon şüphesi olan 1788 kişiden aldıkları vajinal akıntı, sperm ve üretral akıntı örneklerini hazır ticari kit ile çalışmış ve 81 örnekte pozitif sonuç bulmuşlardır. Bu 81 örnekten 20'sinde (%25) *M.hominis* ve *U.urealyticum*'u birlikte tespit etmişlerdir. Turan ve arkadaşlarının (2011), vajinit ön tanılı cinsel yönden aktif 340 kadın hasta ile yaptıkları çalışmada, 9 hastada (%2,6), Zhu ve arkadaşları (2012), genital infeksiyon şüphesi olan 3.306 kadından aldıkları vajen örnekleriyle hazır ticari kit kullanarak yaptıkları çalışmada ise, *U.urealyticum* ve *M.hominis*'in birlikte %13,9 oranında bulunduğunu bildirmişlerdir. Bir diğer çalışmada ise, Diaz ve arkadaşları (2013), 255 vajinal akıntısı olan kadından alınan örnekleri hazır ticari kit ile çalışmışlar ve 43 örnekte (%26,7) pozitif bulmuşlardır. Lee ve arkadaşları (2016), 1035 hamile kadından alınan vajinal sürüntü örneklerini hazır ticari kit ile çalışmışlar ve 571 örnekte pozitiflik tespit etmişlerdir. Bunlardan 97'sinde (%17) *M.hominis* ve *U.urealyticum*'u birlikte izole ettiklerini bildirmişlerdir. Bizim elde ettiğimiz sonuçlar da birçok çalışma ile bu yönden benzerlik göstermektedir.

Çalışmamızda piyasada mevcut iki farklı kit sonuçlarının *M.hominis* tespitindeki uyumu da araştırılmıştır. Buna göre, KİT 1 ile bakteri tespit etme olasılığı KİT 2'ye göre daha fazla bulunmuştur ($p<0.001$) ve istatistiksel olarak anlamlıdır. Literatür araştırmalarında iki kitin karşılaştırıldığı bir çalışmaya rastlanmadığı için çalışmamız bir başka çalışma ile kıyaslanamamıştır. Skilijevic ve arkadaşları (2016), üretral ve endoservikal sürüntü örneklerinde KİT 2 ile *M.hominis*

sıklığını %8,3 olarak belirlemişlerdir. Rastawicki ve arkadaşları (2004), KİT 2 ile *M.hominis* sıklığını araştırmışlar ve genitoürüner sistemden alınan örneklerde %15 olarak tespit etmişlerdir. KİT 2 ile yapılan bir diğer çalışmada da, De Francesco ve arkadaşları (2013) genital mikoplazma prevalansını %18,6 olarak bildirmişlerdir. Biz de 110 kadınla yaptığımız çalışmamızda, KİT 1 ile vajen örneklerinin 35'inde (%31), idrar örneklerinin 23'ünde (%20), toplamda 58 örnekte (%26,3), KİT 2 ile vajen örneklerinin 32'sinde (%29), idrar örneklerinin 20'sinde (%18), toplamda 52 örnekte (%23,6) *M.hominis* i pozitif olarak tespit ettik. Sonuçlar değerlendirildiğinde, KİT 1 ve KİT 2 tespit oranlarında farklılıklar bulunduğu görülmektedir.

Kitlerle yapılan çalışmalarda pozitif örneklerde antibiyotik duyarlılıklarına bakmak mümkün olmaktadır. Bu konuda yapılan yurtiçi ve yurtdışı çalışmaları yıllara göre değerlendirecek olursak, ülkemizde yapılan duyarlılık çalışmalarına baktığımızda; Kılıç ve arkadaşları (2004), genital mikoplazma düşünülen olgularda eğer ampirik tedavi uygulanacaksa doksisisiklin veya ofloksasin kullanılmasını önermektedir. Güçlüer'in 2007'de yaptığı çalışmada doksisisiklin direnci görülmez iken ofloksasin direnci (%60) olarak saptanmıştır. Ekşi ve arkadaşlarının (2006) yaptığı bir diğer çalışmada, doksisisiklin direncine rastlanmamış, ancak roksitromisine %57,1, ofloksasine karşı ise %28,5 oranında direnç tespit edilmiştir. Bayraktar ve arkadaşları (2010) vajinal akıntı şikayeti olan 50 kadın ve şikayeti olmayan 50 kadından alınan vajinal sürüntü örneklerini KİT 2 ile çalışmışlar ve doksisisiklin, pristinamisin ve tetrasikline %100, josamisin %90, klaritromisin %84, azitromisin %53, eritromisine %50 oranında duyarlılık rapor etmişlerdir. Bilir ve arkadaşları (2011), 2004-2009 yılları arasında ürogenital infeksiyon şüphesi olan 1788 hastadan aldıkları vajinal akıntı, sperm ve üretral akıntı örneklerde, doksisisiklin, ofloksasin ve roksitromisin direnç oranlarını incelemişlerdir ve %7 doksisisikline, %10 ofloksasine, %15 roksitromisine karşı direnç bildirilmiştir. Yine Turan ve arkadaşları (2011), *M.hominis* pozitif hastalarda, antibiyotik dirençlerini belirlemiş, *M.hominis* izolatlarında makrolid grubu antibiyotiklere (klaritromisin, eritromisin ve azitromisin) olan direnci diğer antimikrobiyallerden daha yüksek bulmuşlardır (%85,7, %78,6, %71,5). *M.hominis*'in en duyarlı olduğu antimikrobiyaller de

josamisin ve pristinamisin (%92,9), üçüncü sırada ise doksisisiklin (%85,7) olarak bildirilmiştir. Meral ve arkadaşları (2014), Nisan 2011- Mayıs 2014 yılları arasında *M.hominis* varlığı saptanan örneklerde, *M.hominis* suşlarında eritromisine %95,9, klaritromisine %89,1, siprofloksasine %87,1, ofloksasine %87,1, azitromisine %83, josamisine %25,8, pristinamisine %15, tetrasikline %12,3, doksisisikline %6,8 direnç bildirmiştir.

Yurtdışında da duyarlılıkların verildiği çalışmalar bulunmaktadır. Leli ve arkadaşları (2012), 331 kadından alınan endoservikal örnekleri hazır ticari kit ile çalışmış olup, *M.hominis* açısından 8 antibiyotiğe karşı direnç oranlarını belirlemiştir. Buna göre, pristinamisin, doksisisiklin, josamisin, siprofloksasin ve ofloksasine karşı direnç gelişmediği, eritromisin (%100), azitromisin (%66,7) ve roxitromisine (%66,7) oranında direnç geliştiğini bildirilmişlerdir. Vargovic ve arkadaşlarının 2013’de hazır yine kit ile yaptıkları çalışmada, *M.hominis*’ in doksisisiklin, ofloksasin, klindamisin ve tetrasiklin duyarlılıkları sırasıyla %100; %100; %97,3; %83,8 olarak belirlenmiştir. İzolatlar, eritromisin ve azitromisine karşı %100 dirençli bulunmuştur. Diğer bir çalışmada ise 255 vajinal akıntısı olan kadında, hazır ticari kit kullanılarak antibiyotik duyarlılıklarına bakılmış olup, *M.hominis* örneklerinde doksisisiklin, minosiklin klindamisine %20’ den az bir direnç gelişirken, eritromisin, azitromisin ve klaritromisine karşı >85% oranında direnç geliştiği bildirilmiştir (Diaz ve ark., 2013). Biernat ve arkadaşları (2013) yaptıkları çalışmada, duyarlılığın en yüksek olduğu antimikrobiyalleri sırasıyla doksisisiklin, tetrasiklin, pristinamisin ve josamisin olarak saptamıştır. Song ve arkadaşları (2014)’nın 2005 ve 2013 yılları arasında çeşitli genital semptomları olan 2689 kadını dahil ettiği çalışmada, doksisisiklin, josamisin, tetrasiklin ve pristinamisine düşük oranda direnç tespit edilmiştir (<%5,0) ve bu oranlar çalışma periyodu süresince değişikliğe uğramamıştır. 2009-2013 yılları arasında Wang ve arkadaşları (2014)’nın 6051 kadını yaptıkları bir diğer çalışmada, tetrasiklin ve doksisisikline direnç gelişmediği bildirilmiştir. Makrolid grubu antibiyotiklere (azitromisin, eritromisin, klaritromisin, roksitromisin) direnç sırasıyla; %98; %100; %96 ve %96 şeklinde iken, kinolon grubu antibiyotiklere (levofloksasin, siprofloksasin, ofloksasin) direnç ise; %80; %82; %85 olarak bulunmuştur. Çalışmalar incelendiğinde, yıllara göre duyarlılık

oranlarında orantılı değişimler görülmüş olsa da bazı antibiyotikler için farklı sonuçlar dikkat çekmektedir. Bu durumun, uzun periyotlarda bakılan direnç oranları, bilinçsiz antibiyotik kullanımı ve yaşadıkları bölgeler ve sosyoekonomik statüden kaynaklı olabileceği düşünölmüştür. Biz de çalışmamızda kitlerle antibiyotik duyarlılıklarını tespit ederek, tüm suşlar içerisinde en yüksek duyarlılığı %100 ile pristinamisine karşı, bunu takiben, %91 doksisiklin, %83 tetrasiklin, %52 josamisine karşı bulduk. En yüksek direnç ise, %100 ile siprofiloksasine, %91 ile klaritromisine karşı bulunmuş olup, eritromisine ve azitromisine direnç, %89 olarak saptanmıştır. %97 roksitromisin ve %35 ofloksasine direnç tespit edilmiş olan çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar diğer çalışmalarla belli antibiyotikler için benzerlik göstermektedir.

Çalışmamızda *M.hominis* pozitif bulunan örneklerde antibiyotik duyarlılıkları tespit edildikten sonra hastalara uygun antimikrobiyal tedavi uygulanmış olup, tedavi gören hastalardan 25’i tedavi sonrasında kontrole çağırılmıştır. Bu hastalardan alınan vajen örneklerinden 5’inde *M.hominis* varlığı gözlenerek, tedavi başarısı % 80 olarak belirlenmiştir. Benzer şekilde Lee ve arkadaşları tarafından (2010) cinsel yünden aktif 84 kadının tümünden hem vajen ve hem idrar örnekleri alınmış, ticari kit ile antibiyotik duyarlılıkları araştırılmıştır. Toplamda pozitif 29 hasta tedaviye alınmış ve sonrasında kontrole çağırılmıştır. 24 hasta negatif sonuç verirken, 5 hastada *M.hominis* tekrar tespit edilmiştir. Pozitif çıkan hastaların tekli tedavi gördükleri bildirilmiştir. Bu çalışmadaki tedavi başarısı %82 ile bulgularımızla benzerdir. Tedavi sonrasında antibiyotik duyarlılıklarında herhangi bir değişiklik gözlenmemiş olup, yeniden *M.hominis* tespit edilen hastaların, tekli tedavi aldığı ve bu nedenle tedavi edilemediği veya yeniden infeksiyon etkeni aldığı sonucuna varılmıştır. Eşli tedavi gören hastalarda *M.hominis* izole edilmemiş olup, sonuçlarımız çalışma ile benzerlik göstermektedir.

Yapılan çalışmalarda, vajenden *M.hominis* tespitinde kitlerle elde edilen sonuçlar güvenilir kabul edilse de, kültür veya PCR ile doğrulamanın yapılmasının uygun olacağı sonucuna varılmıştır. Bizde, kitlerle ve kültür yöntemiyle *M.hominis*

varlığını araştırdığımız çalışmamızda, farklı sonuçlara rastlamış olup, farklı rnekleri PCR ile çalışarak doğrulamasını yaptık. Kitlerde tespit edemediğimiz ancak kültür ile bulduğumuz pozitif rnekleri PCR ile tespit ederek, yapılan doğrulama çalışmasının önemini bir kez daha vurgulamış olduk. PCR ve kültür çalışmalarının paralel sonuç verdiği çalışmamızda kültür yönteminin güvenilir bir yöntem olduğu açıktır. Ancak çok zaman aldığı ve kontaminasyon riski taşıdığı için çok tercih edilmemektedir.

İzolasyonu zor olan *M. hominis* tanısında PCR yönteminin kullanılmasının daha uygun olduğu yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (Blanchard ve Bebear, 2002). Horn ve arkadaşları (1996), PCR ile kültür yöntemini karşılaştırıp PCR yönteminin %95 oranında daha duyarlı ve kısa sürede sonuçlandığını vurgulamışlardır. Bir diğer çalışmada, 203 örnek agar kültür yöntemiyle çalışılmış, PCR ile 13 örnekte *M.hominis* pozitif fakat kültür negatif olarak tespit edilmiştir. PCR yönteminin kültür yönteminden daha hassas olduğu sonucuna varılmıştır (Petrikkos ve ark., 2006). Benzer Şekilde, Stellrecht ve arkadaşlarının (2004) kültür ve PCR metodlarını karşılaştırdıkları çalışmada, 84 hastadan, kültür yöntemiyle 21 (%25) pozitif, PCR ile 28 (%33) pozitif *M.hominis* tespit edilmiştir.

Diaz ve arkadaşlarının (2010) yaptığı çalışmada ise; 240 kadında, hazır ticari kit ve PCR yöntemi ile *M.hominis* varlığı araştırılmıştır. PCR yöntemiyle 22 hastada *M.hominis* pozitif bulunurken, hazır kit yöntemiyle yalnızca 8 pozitif örnek tespit edilebilmiştir. Buna göre; *M.hominis* tespitinde, PCR yönteminin (%100), kit yöntemine (%36) göre yüksek derecede hassasiyet gösterdiği bildirilmiştir. Michou ve arkadaşları (2014), PCR ve kit yöntemlerini kullandığı çalışmalarında, kit yöntemi ile *M.hominis*'i %13,7, PCR yöntemi ile %19,5 oranında tespit etmişlerdir. Abaslı (2007) yaptığı çalışmada, *M.hominis* varlığını kit ve PCR yöntemi ile araştırmış, kit ile yapılan çalışmada, *M.hominis* sıklığını %2,9 (n=2) olarak bulmuştur. PCR yöntemi ile bu oranı %7,1 (n=5) olarak bildirmiştir. Najar ve Samimi (2008) ise; 312 kadın ile yaptıkları çalışmada, kit ve PCR yöntemi kullanarak *M.hominis* varlığını değerlendirmişlerdir. PCR ile 28 (%27,4) kadında, kit yöntemi ile yalnızca 12

kadında *M.hominis* pozitif tespit edilmiş olup PCR hassasiyeti %91,8, kit ile yapılan çalışma hassasiyeti %53 olarak bildirilmiştir. Redelinghuys ve arkadaşları (2013), 49 kadında *M.hominis*'i hazır ticari kit kullanarak tespit etmişlerdir. Sonuçları doğrulamak için PCR' ında dahil edildiği çalışmada, kit ile bakılan örneklerden 11' (%22,4) inde *M.hominis* pozitif olarak tespit edilmiş olup, PCR ile yapılan çalışmalarda, 36 (%73,4) pozitif tespit edilmiştir. Choe ve arkadaşları 2013 de üroloji ve jinekoloji bölümüne başvurmuş 365 semptomatik 532 asemptomatik toplam 897 katılımcı ile yaptıkları çalışmada, 387 kadına ait idrar ve endoservikal sürüntü örneğini, kit ve PCR yöntemleriyle karşılaştırmalı olarak çalışılmışlar, sonuçlar karşılaştırıldığında, PCR ile 47 (%100) *M.hominis* tespit ederken, ticari kit ile 21 pozitif (%47) 26 negatif sonuç tespit etmişlerdir. Tüm bu çalışmalar dikkate alındığında, PCR'ın kit yöntemine göre hızlı, güvenilir ve hassas bir yöntem olduğu sonucuna varılmıştır. Bizim çalışmamızda da, *M.hominis* PCR ile %32'sinde pozitif bulunmuşken, kitle %24 oranında tespit edilmiştir. Yöntemler karşılaştırıldığında, diğer çalışmalarda olduğu gibi, iki metot arasında pozitif bulma oranı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,001$).

Hem vajen hem de idrar örnekleri ile yapılan çalışmamızda, örnek tiplerinin *M.hominis* varlığının tespiti üzerine etkisi araştırılmış olup, kitlerle yapılan çalışmalarda, farklı çıkan sonuçlar PCR ile doğrulanmış ve PCR' ın kitlere göre daha hassas ve güvenilir sonuçlar verdiği görülmüştür. Örnekler ayrı ayrı değerlendirildiğinde, özellikle idrar örneklerinde kitlerin tespit oranları PCR' a göre anlamlı derecede düşük çıkmıştır ($p<0.01$). McKechnie ve arkadaşları (2011), 216 cinsel yönden aktif kadın ile birçok örnek üzerinde yaptıkları çalışmada, *M.hominis* tespitinde en hassas örneğin vajinal sürüntü örneği (%99,3) olduğunu tespit etmişlerdir. İdrar örneğinden tespit oranını ise %84,6 olarak bildirmişlerdir. Benzer şekilde, bizim çalışmamızda da, *M.hominis* tespitinde en hassas örnek vajen sürüntü örneği (%97,2) olarak belirlenmiş olup, idrar tespit oranı ise %63,8 bulunmuştur. Bu bilgiler değerlendirildiğinde, kitlerle yapılan çalışmalarda vajen örneğinin tercih edilmesinin daha uygun olduğu sonucuna varılmıştır.

Literatür bilgilerine göre, *M. hominis* oranlarının farklı hasta grupları için genellikle tek bir numune üzerinde çalışılarak belirlenmiş olduğu görülmektedir. Seçtiğimiz hasta profiline ait hem idrar hem vajen sürüntü örneklerinde üç farklı yöntemle karşılaştırmalı olarak yapılmış bir çalışmaya rastlanmamıştır. Çalışmamızda *M. hominis*'in tespiti için, cinsel yönden aktif kadınlardan alınan idrar ve vajen sürüntü örnekleri ile, klasik besiyerinde kültür yapılmış olup, iki farklı hazır ticari kitle teyidinin sağlanmasının yanı sıra, bulunan farklı sonuçlara ait numunelerin PCR yöntemi ile de doğrulama çalışması yapılmıştır. Buna göre, PCR'in en etkin yöntem olduğu belirlenmiştir. Ayrıca ticari kitlerin numuneler üzerindeki tespit oranları, doğruluk yüzdeleri ve antibiyotik duyarlılıkları karşılaştırmalı olarak araştırılmış olup, çalışmaya dahil edilen örneklerden, vajen örneğinin idrar örneğine göre daha hassas sonuçlar verdiği görülmüştür. Çalışmamızın bundan sonra yapılacak çalışmalar ve uygulamalar için yol gösterici olacağı düşünülmektedir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, *M.hominis* mikroorganizmasının cinsel yönden aktif kadınlar arasında, şikayeti olan, olmayan ve kontrol gruplarından alınan vajen ve idrar örneklerinde, klasik kültür, piyasada kullanımı olan ticari kitler ve PCR olarak belirlenmiş üç farklı yöntem ile tespiti araştırılmıştır. Ticari kitlerle yapılan tespitlerde, kitlerin iki ayrı numunede verdiği farklı sonuçlar PCR ile çalışılarak doğrulanmış ve sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Buna göre, çalışmaya alınan 220 örnekten 72'si kültür yöntemiyle pozitif olarak tespit edilmiştir. Bunlardan 35'i kitlerle uyumlu sonuç vermiş olup, 37'sinde farklı sonuç saptanmıştır. Farklı sonuç bulunan 37 örnek ve kültür pozitif 35 örnek PCR analizine alınarak doğrulaması yapılmıştır ve tümü pozitif olarak tespit edilmiştir. Sonuç olarak, çalışmamızda 220 örnekten 72'sinde (%32,7) *M.hominis* pozitif olarak bulunmuştur.

Örneklerin dağılımına bakıldığında, toplamda 110 hasta arasından şikayeti olan 40 hastadan 21'i (%52,5), şikayeti olmayan 40 hastadan 11'i (%27,5) ve kontrol grubu 30 hastadan 4'ünde (%13), toplam 36 hastada (%32,7) *M.hominis* saptanmıştır. Bu sonuçlar değerlendirildiğinde, çalışmamızda *M.hominis* görülme sıklığının yapılan diğer çalışmalardan daha yüksek oranda tespit edildiği dikkat çekmektedir. Çalışmamızda ortaya çıkan farklı sonucun, doktorumuzun hasta grubunu, vajen akıntısı, sık idrara çıkma, ağrı gibi şikayetler ile başvurmuş kadınların, düşük yapma, erken doğum hikayelerini de dikkate alarak belirlemesi, alınan örneklerin transport besiyerlerine zamanında inoküle edildikten hemen sonra, uygun koşullarda laboratuvara ulaştırılarak, bekletilmeden işleme alınmasından kaynaklı olabileceği düşünülmektedir.

PCR yönteminde amplifikasyon aşaması için 335 bp ve 173 bp olmak üzere iki baz çifti kullanılmıştır. 335 bp'lik primer dizini ile yapılan analizde 37 örnekten

19 pozitif sonuç elde edilirken, 173 bp'lik dizinde 37 örneğin tamamı pozitif olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçlar yorumlandığında; *M.hominis* tespitinde 173 bp'lik primer dizininin daha uygun olduğu sonucuna varılmıştır.

Cinsel yönden aktif kadınlardan izole edilen pozitif mikroorganizma örneklerine ait antibiyotik duyarlılıkları ise; KİT 1 ile, tüm suşlar içerisinde en yüksek duyarlılık %100 ile pristinamisine karşı, bunu takiben %80 tetrasiklin, %75 josamisine karşı bulundu. En yüksek direnç oranları ise %100 ile levofloksasin, %97 ile klindamisin, roksitromisin ve %94 ile siprofiloksasinde görüldü. Bunu takiben %81 eritromisin, %89 klaritromisin karşı direnç tespit edildi. Aynı şekilde KİT 2 ile yapılan antibiyotik duyarlılıkları değerlendirmeye alındığında ise, tüm suşlar içerisinde en yüksek duyarlılık %100 ile pristinamisine karşı bulundu. Bu sonuç KİT 1 ile uyumlu çıkmış olmakla birlikte, bunu takiben, %91 doksisiklin, %83 tetrasiklin, %52 josamisine karşı duyarlı bulunmuştur. Direnç oranlar ise, %100 ile siprofiloksasine, %91 ile klaritromisine karşı tespit edilmiş olup, eritromisin ve azitromisine karşı direnç ise %89 olarak saptanmıştır.

Sonuçlar istatistiki olarak değerlendirildiğinde; bakteri olma olasılığı açısından, şikayeti olan grup ile kontrol grubu arasında ve şikayeti olmayan grup ile kontrol grubu arasında anlamlı fark bulunmuştur ($p<0.001$). Yöntemler arası uyum değerlendirildiğinde, Klasik ve PCR yöntemlerinde bakteri olma olasılığı, KİT 1 yöntemine göre 1.582 kat daha fazladır ($p<0.001$). KİT 2 yönteminde bakteri olma olasılığı (%24), KİT 1 yöntemine (%26) göre 0.849 kat daha fazladır ($p<0.001$). Numuneler arası uyum katsayısı incelendiğinde ise; 72 pozitif örnekte, vajen ve idrar örneklerinden, KİT 1 ve KİT 2 ile *M.hominis* tespit etme oranı arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.01$). Vajen örneklerinde *M.hominis* tespitinin idrara göre daha anlamlı olduğu görülmüştür.

Tüm bu bilgiler ışığında; klasik kültür yöntemi uzun zaman aldığı için çok tercih edilmediğinden, KİT 1 ve KİT 2 ile yapılacak çalışmalarda, *M.hominis* tespit etme oranı yüksek olan KİT 1'in aynı zamanda fiyatının da düşük olması nedeniyle, hem maliyeti düşürme, hem de mikroorganizma tespitinde daha sağlıklı sonuçlara ulaşılması açısından tercih edilebilir olduğunu düşünmekteyiz. Yine kitlerle yapılan *M.hominis* tespitinde vajen örneklerinin idrar örneklerine göre daha sağlıklı sonuçlar verdiği göz önünde bulundurulursa, kitlerle yapılacak *M.hominis* tayininde vajen örneklerinin tercih edilmesi ve kitle elde edilen negatif sonuçlarda hastanın bulguları gözönünde bulundurularak, sonuçların PCR ile doğrulanması mikroorganizma tespitinde ve tedavi uygulanarak infeksiyonların giderilmesinde büyük önem taşımaktadır. Tüm literatür bilgileri ve çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar dikkate alındığında, PCR tespit oranlarına daha yakın sonuçlar elde edebilecek kitlerin üretilmesi veya mevcut kitlerin validasyon çalışmalarının yapılmasının uygun olacağı sonucuna varılmıştır.

ÖZET

Cinsel Yönden Aktif Kadınlarda *Mycoplasma hominis* Profilinin Farklı Yöntemlerle Araştırılması Üzerine Bir Çalışma

Genellikle ürogenital ve solunum sistemi hastalıkları ile ilişkili olan *Mycoplasma hominis* (*M.hominis*), cinsel yolla bulaşabilen, peptidoglikan yapısında hücre duvarına sahip olmayan ve hücre çapı en küçük mikroorganizmalardır. İnfertiliteden, erken doğum, tekrarlayan gebelik kayıpları ve yenidoğanda solunum sistemi hastalığından sorumlu tutuldukları bilinmektedir. Hassas mikroorganizmalar olmaları ve özel taşıma ve kültür besiyerine gereksinim duymaları laboratuvar tanıları güçleştirmektedir. *M.hominis* tespiti, klasik kültür yöntemi, serolojik tanı yöntemi, moleküler tanı yöntemleri ve hazır ticari kitler gibi yöntemlerle yapılabilmektedir. Bu mikroorganizmaların insanlarda meydana getirdiği hastalıkların önemini ortaya koymak için, izolasyon ve identifikasyonun doğru ve güvenilir bir şekilde yapılması gerekmektedir.

Bu çalışmada, Başkent Üniversitesi Ankara Hastanesi Kadın Doğum Kliniğine başvurmuş cinsel yönden aktif 110 kadından alınan vajen ve idrar örneklerinde (220 örnek) *M.hominis* görülme sıklığı araştırılmıştır. Bu amaçla, Mycoplasma Agar besiyeri, piyasada kullanımı mevcut iki hazır ticari kit ile paralel olarak ve PCR yöntemi olmak üzere 3 farklı klinik yöntem kullanılarak karşılaştırmalı bir çalışma yapılmıştır. Tüm örnekler önce klasik agar yöntemi ve kitlerle çalışılmış olup, farklı pozitiflik bulunan örnekler PCR ile çalışılarak sonuçlar değerlendirilmiştir. 220 cinsel yönden aktif kadından alınan idrar ve vajen örneklerinden 72'sinde *M.hominis* pozitif bulunmuştur. Pozitif örneklerin 37'sinde farklı pozitiflik tespit edilmiş olup 35'inde ise kitlerle ve klasik yöntemle uyumlu olarak hem vajen hem de idrarda *M.hominis* pozitif olarak bulunmuştur. Farklı pozitiflik bulunan 37 örnek PCR analizine alınarak doğrulaması yapılmıştır. PCR sonuçlarına göre 72 örnek de pozitif bulunmuş olup, çalışmamızda 220 örnekten 72'sinde (%32,7) *M.hominis* pozitif olarak tespit edilmiştir.

M.hominis tespitinde tek bir yöntemin bu mikroorganizmayı teşhis için yeterli olmadığı, bu nedenle, doğrulayıcı, hızlı ve güvenilir tanı sağlayabilmek için kit ve PCR yöntemlerinin kombine edilerek çalışılmasının uygun olduğu sonucuna varılmıştır. Ayrıca kitlerle yapılan *M.hominis* tespitinde, vajen örneklerinin idrar örneğine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: *Kültür, Mycoplasma hominis, PCR*

SUMMARY

A Study On The Determination of *Mycoplasma hominis* Profile With Different Methods in Sexually Active Women.

M.hominis is the smallest microorganisms yet discovered. They are usually associated with urogenital and respiratory system diseases, it is sexually infected and they don't have a peptidoglycan cell wall. Hence, they are found to be responsible of infertility, prematurity, recurrent abortus and newborn respiratory distress. Laboratory diagnosis of them are relatively complicated since they are very sensitive microorganisms and they require special transport and culture media. Several liquid and agar media formulas, serological methods, molecular methods, commercial kits are developed for detection of *M.hominis*. Since the infections caused by these microorganisms exhibit importance, proper isolation and identification of these bacteria are required to make proper and reliable.

In this study, vaginal and urinary samples obtained from at least 110 sexually active women from Başkent University Ankara Hospital Obstetrics Clinic will be studied for detection of *M.hominis*. In this purpose, it was made a comparative study by using three different clinical methods which are commercially available mycoplasma agar media, commercially available kits and PCR methods. All samples were studied first with classical agar method and kits, then samples which different positivity studied with PCR method and evaluated the results. *M.hominis* were detected positive in 72 samples from 220 vaginal and urinary samples obtained from sexually active women. 37 number of these positive samples were detected different positivity. The other 35 number of them were detected *M.hominis* positive in both vagen and urine which compatible with kits and classical method. The 37 samples which found different positivity were validated on PCR analysis. According to the PCR results 72 samples were found positive, 72 of 220 samples (32,7%) were identified as positive *M.hominis* in our study.

M.hominis identify a single method is not enough to detect these microorganisms, therefore, to enable confirmatory, rapid and reliable diagnosis it was appropriate to work with combination of kit and PCR methods has been concluded. Also in determining *M.hominis* made with the kit, vaginal samples was found to be significantly higher than urine samples.

Keywords: *Culture, Mycoplasma hominis, PCR*

KAYNAKLAR

- ABASLI HE. (2007). İnfertil Hastalardan Alınan İdrar Ve Sürüntü Örneklerinden Real Time PCR Yöntemi İle *Chlamydia trachomatis* ve *Mycoplasma hominis* Etkenlerinin Araştırılması. T.C. Genelkurmay Başkanlığı Gülhane Askeri Tıp Akademisi Askeri Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanlığı TıptaUzmanlık Tezi.
- AFACAN G, YUMUK Z, ÖZKALAY YN, BALIKÇI E, MERCAN F. (2007). Steril Pyürili Hastalarda *Mycoplasma hominis* ve *Ureaplasma urealyticum* Prevelansı ve Antibiyotik Duyarlılığı, *ANKEM Derg*; **21(4)**:232.
- ALTINDİŞ M, TANIR MH.(2001). Vajinal Akıntısı Olan Kadınlarda *Mycoplasma hominis* ve *Ureaplasma urealyticum* sıklığının ve Antimikrobiyallere Direnç Durumlarının Saptanması, *Türk Hij Den Biyol Derg*. **58(1)**:15 – 20.
- ARNOLD E. (1984). In Topley & Wilson's Principles of Bacteriology, *Virology & Immunity*, 7th ed, vol.2, London, Williams & Wilkins.
- ATAOĞLU A. (1998). Prematürelere nazofarengal aspiratlarında *Ureaplasma urealyticum* ve *Mycoplasma hominis*'in bulunma sıklığı. İstanbul Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları Uzmanlık Tezi.
- BACZYNSKA A, SVENSTRUP H, JENS FEDDER J, BIRKELUND S, CHRISTIANSEN G. (2004). Development of real-time PCR for detection of *Mycoplasma hominis*. *BMC Microbiology*.4: 35
- BAHAABADI SJ, NAEIME M. (2014). Isolation and Molecular Identification of *Mycoplasma hominis* in Infertile Female and Male Reproductive System Moghadam. *Urol Mon*. **6(6)**: e22390
- BAKSU B, BAKSU A, DAVAS I, ÇINAR S, AGAR E, AKVARDAR T. (2005). Endoservikalkültürlerde *Ureaplasma urealyticum* ve *Mycoplasma hominis* saptanan olgularda roksitromisin, doksisisiklin ve ofloksasin duyarlılığı. *T Klin J Gynecol Obst*. **15**: 25-28.
- BASEMAN JB, CAGLE M. (2004). Diagnostic assessment of *Mycoplasma genitalium* inculture-positive women. *J Clin Microbiol*. **42(1)**:203-11.
- BAUM SG. (2005). *Mycoplasma* diseases. Principles and Practice of Infectious Diseases. "7th Ed" New York: Churchill Livingstone. **1**: 2477

- BAYRAKTAR MR, HALİL I, OZEROL A, GUCLUER N, CELİK O. (2010). Prevalence and antibiotic susceptibility of *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* in pregnant women. *International Journal of Infectious Diseases*. **14**: e90-e95.
- BENGİSUN JS, ÖZENCİ H, ÜNLÜ C. (1996). Vajinal Akıntıdan Mycoplasma ve Ureaplasma İzolasyonu ve Antibakteriyellere Karşı Duyarlılıklarının Saptanması. *Mikrobiyol Bült*. **30**: 33-39
- BETTY A, DANIEL F, ALICE S, WEISSFELD.(2002). Diagnostic Microbiology. *Mosby, Inc.* 587 – 592.
- BIERNAT-SUDOLSKA M, ROJEK-ZAKRZEWSKA D, ZAWILIŃSKA B, MAGDALENA VK. (2013). The need to verify of positive *Mycoplasma hominis* results obtained using the Mycoplasma IST 2 tests. *J of Lab Diag*.**49(1)**:5-8.
- BIHARI A. (1997). Screening of sexually transmitted diseases (*Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum* and *Chlamydia trachomatis*) in young women. *Orv Hetil*. **30;138(13)**:799- 803. Review.
- BİLGEHAN H. (1996). Klinik Mikrobiyoloji, Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları: *İzmir; Barış Yayınları*. s: 547.
- BİLGEHAN H. (2002). Klinik Mikrobiyolojik Tanı. *Barış Yayınları, İzmir*, 384-400,
- BİLİR YA, PEHLİVANOĞLU F, YAŞAR KK, ŞENGÖZ G. (2011). Ürogenital Semptomları olan Hastalarda *Mycoplasma hominis* ve *Ureaplasma urealyticum* Sıklığı. *25.ANKEM Antibiyotik ve Kemoterapi Kongresi. 28 Nisan-02 Mayıs*.
- BLANCHARD A, BEBEAR CM. (2002). Mycoplasmas of Human. *Molecular Biology and Pathogenicity of Mycoplasmas*. Academic/Plenum Publishers; p: 45-72.
- BOESEN T, FEDOSOVA NU, KJELDGAARD M, BIRKELUND S, CHRISTIANSEN G. (2001). Molecular design of *Mycoplasma hominis* Vaa adhesin. *Protein Science*.**10**: 2577- 2586.
- BOESEN T, EMMERSEN J, BACZYNSKA A, BIRKELUND S, CHRISTIANSEN G. (2004). The vaa locus of *Mycoplasma hominis* contains a divergent genetic islet encoding a putative membrane protein. *BMC Microbiology*.**4**: 37
- CAMPOS GB, LOBÃO TN, SELIS NN, AMORIM AT, MARTINS HB, BARBOSA MS, OLIVEIRA THC, DOS SANTOS DB, FIGUEIREDO TB, MARQUES ML, TIMENETSKY J. (2015). Prevalence of *Mycoplasma genitalium* and *Mycoplasma hominis* in urogenital tract of Brazilian women. *BMC Infectious Diseases*.**15**: 60.
- CAPOCCIA R, GREUB G, BAUD D. (2013). *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis* and adverse pregnancy outcomes. *Curr Opin Infect Dis*.**26(3)**: 231-40.

- CASSELL GH, WAITES KB, WATSON HL, CROUSE DT, HARASAWA R.(1993). *Ureaplasma urealyticum* intrauterine infection: role in prematurity and disease in newborns. *Clin Microbiol Rev.* **6(1)**:69- 87.
- CEDILLO-RAMÍREZ, L, GIL C, ZAGO I, YÁÑEZ A, GIONO S. (2000). Association of *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* with some indicators of nonspecific vaginitis. *Rev Latinoam Microbiol.***42(1)**:1- 6.
- CHOE H.S A, DONG SUP LEE A, SEUNG-JU LEE A, SUNG-HOO HONG B, DONG CHOON PARK C, MI-KYUNG LEE D, TAE-HYOUNG KIM E, YONG-HYUN CHO. (2013). Performance of Anyplex™ II multiplex real-time PCR for the diagnosis of seven sexually transmitted infections: comparison with currently available methods. *International Journal of Infectious Diseases.* **17**: e1134–e1140.
- CHUA KB, NGEOW YF, NG KB, CHYE JK, LIM CT.(1998). *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis* isolation from cervical secretions of pregnant women and nasopharyngeal secretions of their babies at delivery. *Singapore Med J.* **39(7)**:300-2.
- CHUA KB, NGEOW YF, LIM CT, NG KB, CHYE JK.(1999). Colonization and transmission of *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis* from mothers to full and preterm babies by normal vaginal delivery. *Med JMalaysia.* **54(2)**:242-6.
- CIBA Foundation Symposium (1972). Pathogenic Mycoplasmas. Acute Diarrhoean Childhood. Principles of ‘mini-life’. Elsevier Excerpta Medica. North Holland.
- CITTI C, WISE K. S. (2005). *Mycoplasma hyrhhinis* vlp gene transcription: critical role in phase variation and expression of surface lipoproteins. *Mol. Microbiol.* **18**: 649-660.
- COHEN J. (1960). A coefficient of agreement for nominal scales. *Educational and Psychological Measurement.* **20**: 37-46.
- DANIELS MJ, MARKHAM PG. (1982). Plants and Insect Mycoplasma Techniques. A Halsted Press Book. NewYork. Toronto. Published in USA and Canada. 1st Edition.
- DAXBOECK F, ZITTA S, STADLER M, IRO E, KRAUSER. (2005). *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* in patients with sterile pyuria. *J Infect.* **51 (1)** :54- 8.
- DE FRANCESCO MA, CARACCILO S, BONFANTI C, MANCA N. (2013). Incidence and antibiotic susceptibility of *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* isolated in Brescia, Italy, over 7 years. *J Infect Chemother.* **19(4)**:621-7.

- DEGUCHI T, YASUDA M, YOKOI S, NAKANO M, ITO S, OHKUSU K, (2009). Failure to detect *Mycoplasma genitalium* in the pharynges of female sex workers in Japan. *J Infect Chemother.***15(6):**410-3.
- DIAZ-GARCIA FJ, HERRERA-MENDOZA AP, GIONO-CEREZO S. (2006). *Mycoplasma hominis*. *Guerra-Infante FMHum Reprod.* **21(6):** 1591-1598.
- DIAZ L, CABRERA LE, FERNÁNDEZ T, IBÁÑEZ I, TORRES Y, OBREGÓN Y, RIVERO Y.(2013). Frequency and Antimicrobial Sensitivity of *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis* in Patients with Vaginal Discharge. *MEDICC Review.* **15(4):** 45-47.
- DIAZ N, DESSÌA D, DESSOLEB S, LUIGI FIORIA P, RAPPELLIA P. (2010). Rapid detection of coinfections by *Trichomonas vaginalis*, *Mycoplasma hominis*, and *Ureaplasma urealyticum* by a new multiplex polymerase chain reaction. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease.* **67:** 30–36.
- DIENES L, WEINBERG HJ. (1990). The L forms of bacteria. *Bacteriol. Revs.***15:** 245-288.
- DOMINGUES D, TAVIRA LT, DUARTE A, SANCA A, PRIETO E, EXPOSTO F. (2003). Genital mycoplasmas in women attending a family planning clinic in Guine-Bissau and their susceptibility to antimicrobial agents. *ActaTrop.* **86(1) :** 19- 24.
- DYBVIG K, VOELKER LL. (1996). Molecular biology of mycoplasmas. *Annu. Rev. Microbiol.***50:** 25-57.
- EDWARD DG, FREUNT EA. (1969). Proposal for Classifying Organisms Related to *Mycoplasma laidlawii* in a Family Sapromycetaceae, Genus Sapromyces, within the Mycoplasmatales. *J. Gen. Microbiol.***57:** 391-395
- EILERS E, BOLLMANN AMR, HAFFNER D, QUERFELD U. (2007). Intrarenal Abscesses Due to *Ureaplasma urealyticum* in a Transplanted Kidney. *Journal of Clinical Microbiology.* **45(3):** 1066-1068.
- EKŞİ F, BAYRAM A, ZER Y, BALCI İ, BAYRAK S, AYDINOK Z. (2006). Servisitli Kadınların Endoservikal Sürüntü Örneklerinde *Mycoplasma hominis* ve *Ureaplasma urealyticum* Araştırılması. *Fırat Tıp Dergisi.***11(4):** 193-196.
- FIENGOLD DS, MANSUR CP. (2003). Gonorrhea. In: *Dermatology in General Medicine.* 6th ed, New York: Mc Graw Hill, :2205-2213.
- FREEMAN B.(1979). Textbook of Microbiology. 21st ed. Philadelphia: Saunders Company.
- FURNERI PM, RAPPAZZO G, MUSUMARRA MP, TEMPERA G, ROCCASALVA LS. (2000). Geneticbasis of natural resistance to erythromycin in *Mycoplasma hominis*. *J Antimicrob Chemother.* **45:** 547-8.

- GERÇEKER D. (1999). Mycoplasma ve Ureaplasma. In: Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. 1. Öncü basımevi. *Güneş kitapevi*. 595- 602.
- GÖDEKMAN A. (2004). Mycoplasma ve Ureaplasma. Tıp ve Diş Hekimliğinde Genel ve Özel Mikrobiyoloji. *Güneş Kitapevi*. s:554- 560.
- GÖRAL G. (1994). Mycoplasma ve L formları. *Klinik Mikrobiyoloji*. Bursa: *Güneş&Nobel Tıp*; s: 149-159.
- GRATTARD F, SOLEIHAC B, DE BARBEYRAC B, BEBEAR C, SEFFERT P, POZZETTO B.(1995). Epidemiologic and molecular investigations of genitalmycoplasmas from women and neonates at delivery. *Pediatr Infect Dis J*.**14(10)**:853- 8.
- GÜÇLÜER N, (2007). Mikoplazmaların Hamile Kadınlarda Mikrobiyolojik Profili. İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez.
- HARTMANN M. (2009). Genital Mycoplasmas. *JDDG*. **7**: 371–378.
- HEATHER M, HEERSEN AD, MARCEY D. (2001). The RecA Protein: Structure and Biological Function© David Marcey.
- HENRICH B, FELDMANN RC, HADDING U. (1993) Cytoadhesins of *Mycoplasma hominis*. *Infection and Immunity*.**61(7)**: 2945- 2951.
- HENRICH B, HOPFE M, KITZEROWA, HADDING U. (1999). The adherence-associatedlipoprotein P100, encoded by an opp operon structure, functions as the oligopeptidebinding domain OppA of a putative oligopeptide transport system in *Mycoplasma hominis*. *J Bacteriol*. **181**: 4873-8.
- HILL GB. (1993). The microbiology of bacterial vaginosis. *Am J Obstet Gynecol*. **169(2)**:450- 4.
- HONG S, XIN C, QIANHONG Y, YANAN W. (2002). Pelvic inflammatory disease in thePeople’s Republic of China: aetiology and management. *Int J STD AIDS*.**13**: 568-572.
- HORN AM, WOLFF C, DRESSEL P, ZIMMERMANN A, VAHLENSIECK W, PFAFF F, RUCKDESCHEL G. (1996). Polymerase chain reaction versus culture for detection of *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis* in the urogenital tract of adults and the respiratory tract of newborns. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. **15(7)**: 595-8.
- JUDLIN P, THIEBAUGEORGES O. (2009). Levofloxacin plus metronidazole in uncomplicated pelvic inflammatory disease: A preliminary study. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. **145**: 177-179

- KENNY GE.(2005). Genital Mycoplasmas: *Mycoplasma genitalium*, *Mycoplasma hominis*, and *Ureaplasma* species. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. *Principles and Practice of Infectious Diseases*. New York: Churchill Livingstone;2280.
- KILIÇ D, BASAR MM, KAYGUSUZ S, YILMAZ E, BAŞAR H, BATISLAM E. (2004). Prevalence and treatment of *Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma urealyticum*, and *Mycoplasma hominis* in patients with non-gonococcal urethritis. *Jpn J Infect Dis*. **57(1)**: 17- 20.
- KIRCHHOFF H. (1992). Motility. *Mycoplasmas Molecular Biology and Pathogenesis*. Washington DC: ASM Pres; p:289-303.
- KONEMAN EW, ALLEN SD, JANDA WM. (2006). *Mycoplasma and Ureaplasma*. 6th.ed. Lippincott Company New York. 1022 -1063.
- KURUÜZÜM Z, (2007). Mikoplazma Enfeksiyonları, KLİMİK 2007 XIII. TÜRK KLİNİK MİKROBİYOLOJİ VE İNFEKSİYON HASTALIKLARI KONGRESİ, *Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir*.
- KÜÇÜKER MA. (1999). Mikoplazmalar ve Laboratuvar Tanısı. Cinsel Temasla Bulaşan Hastalıklar (CTBH). *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayın* **35**: 175-182.
- LANDIS JR, KOCH GG. (1977). The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics*, **33**: 159-174.
- LEE MY, MYEONG HEE KIM, WOO IN LEE, SO YOUNG KANG, YOU LA JEON. (2016). Prevalence and Antibiotic Susceptibility of *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* in Pregnant Women. *Yonsei Med J*.**57(5)**:1271-1275.
- LEE YS, KIM JY, KIM JC, PARK WH, CHOO MS, LEE KS. (2010). Prevalence and Treatment Efficacy of Genitourinary Mycoplasmas in Women with Overactive Bladder Symptoms. *Korean Journal of Urology*.**51**: 625-630
- LELI C, MENCACCI A, BOMBACI JC, D'ALÒ F, FARINELLI S, VITALI M, MONTAGNA P, BIETOLINI C, MEUCCI M, PERITO S, BISTONI F. (2012). Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis* in a population of Italian and immigrant outpatients. *Le Infezioni in Medicina*, **20(2)**: 82-87.
- LELI C, MEUCCI M, VENTO S, D'ALÒ, FARINELLI S, PERITO S, BISTONI F, MENCACCI A. (2013). Microbial and vaginal determinants influencing *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* genital colonization in a population of female patients. *Le Infezioni in Medicina*. **21(3)**: 201-206.

- LIPITSZ SR, KIM K, ZHAO L (1994). Analysis of Repeated Categorical Data Using Generalized Estimating Equations. *Statistics in Medicine*, **13**:1149-1163.
- LO SC, WANG RY, GRANDINETTI T, ZOU N, HALEY CL, HAYES MM, WEAR DJ, SHIH JW. (2003). *Mycoplasma hominis* lipid-associate membrane protein antigens for effective detection of *M. hominis*-specific antibodies in humans. *Clin Infect Dis*. **15**;36(10):1246- 53.
- LUTON D, VILLE Y, LUTON-SIGY A, COUSIN C, NARRAIDO B, FASSASI-JARRETOU A, ESCARGUEL C. (1994). Prevalence and influence of *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* in 218 African pregnant women and their infants. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. **56**(2):95- 101.
- MANILOFF J, MOROWITZ HJ, BARNETT RJ. (1965). Ultrastructure and ribosomes of *Mycoplasma gallisepticum*. *J. Bacteriol*. **90**: 193-204.
- MCKECHNIE ML, HILLMAN RJ, JONES R, LOWE PC, COULDWELL DL, DAVIES SC, KING F, KONG F, AND GILBERT GL (2011). The prevalence of urogenital microorganisms detected by a multiplex PCR–reverse line blot assay in women attending three sexual health clinics in Sydney, Australia. *Journal of Medical Microbiology*. **60**: 1010–1016
- MEIKLEJOHN G, BECK MD, EATON MD. (1944). Atypical pneumonia caused by psittacosis-like viruses. *J Clin Invest*. **23**(2): 167- 75.
- MERAL T, ALTUN HU, ARIBAŞ HT. (2014). Bir Üniversite Hastanesinde *Mycoplasma hominis* ve *Ureaplasma urealyticum* prevalansı ve Antibiyotik Direnç Profili. *ANKEM Derg*. **28**(4):124-128
- MICHOU V, CONSTANTOULAKIS P, KOSTANTINOS MK, GEORGOULIAS G, KAPETANIOS V, TSILIVAKOS V. (2014). Molecular investigation of menstrual tissue for the presence of *Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis* collected by women with a history of infertility. *J. Obstet. Gynaecol. Res*. **40**(1): 237–242.
- MIRANDA C, CAMACHO E, REINA G, TURINO J, RODRIGEZ – GRANGER J, YETSE R, BAUTISTA MF, GARCIA M, ALADOS JC, DE LA ROSA M. (2005). Isolation of *Mycoplasma hominis* from extragenital cultures. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. **24** (5) : 334- 7.
- MURRAY P, ROSENTHAL K, KOBAYASHI G, PFALLER M. (2005). *Mycoplasma* and *Ureaplasma*. *Med Microb*. 3rd Ed. 8395 – 400.
- NAJAR PS, SAMIMI R. (2008). Comparison of culture with the polymerase chain reaction for detection of genital *Mycoplasma*. *Eur J Gen Med*. **5**: 107-111.

- NULENS E, PRAET JV, SELLESLAG D, LANDSCHOOT TV, DEKEYZER D, DESCHEEMAECKER P, REYNDERS M. (2016). A disseminated *Mycoplasma hominis* infection in a patient with an underlying defect in humoral immunity. CASE REPORT. *Springer-Verlag Berlin Heidelberg*. **44**: 379–381
- NUNEZ-TROCONIS JT. (1999) *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* in different gynecologic diseases. *Invest Clin*. **40(1)**: 9- 24.
- PADANG C, ALAM JACOB TN, NILASARI H, DAILI SF. (2015). Prevalence of *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* infection in female sex workers and its association with douching: A study in East Jakarta, Indonesia using *Mycoplasma System Plus. Indonesia. J Gen Pro DVI*. **1(1)**: 1-8.
- PATAI K, FUZI M, KANJO AH, SIPOS M, PAULIN F. (1998). Severe genital mycoplasma infection following cesarean section. *Orv Hetil*. 15;**139 (11)**: 641- 3.
- PELİT S, BULUT ME, BAYRAKTAR B. (2010). Üretrit Ön Tanılı Hastalardan İzole Edilen *Ureaplasma urealyticum* ve *Mycoplasma hominis* suşlarının Çeşitli Antibiyotiklere Karşı Duyarlılıklarının Belirlenmesi. *ANKEM Derg*. **24(4)**: 227-230.
- PEREYRE S, SIRAND-PUGNET P, BEVEN L, CHARRON A, RENAUDIN HL, BARRE AL, AVENAUD P, JACOB D, COULOUX A, BARBE VR, DARUVAR AD, BLANCHARD A, CE' CİLE BE'BE' AR (2009). Life on Arginine for *Mycoplasma hominis*: Clues from Its Minimal Genome and Comparison with Other Human Urogenital Mycoplasmas. *PLoS Genet. France*. **5(10)**: e1000677.
- PETRIKKOS G.L, HADJISOTERIOU M, DAIKOS GL. (2006). PCR versus culture in the detection of vaginal *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis*. Infectious Diseases Research Laboratory “G. K. DAIKOS”, Athens University School of Medicine, First Department of Propaedeutic Medicine, Laiko General Hospital, Athens, Greece. BRIEF COMMUNICATIONS. 202.
- PIGNANELLI S, PULCRANO G, SCHIAVONE P, DORA IULA V, CATANIA MR (2015). In vitro antimicrobial susceptibility of *Mycoplasma hominis* genital isolates. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*. **81 (3)**: 286-8.
- PINGMIN W, YUEPU P, JIWEN Z. (2005). Prevalence survey on condom use and infection of urogenital mycoplasmas in female sex workers in China. *Contraception*. **72(3)**: 217- 20.
- PRIETO MJR, ANA MARÍA L, BISMAEL LO' PEZ DE TORO MARTÍN CONSUEGRA, PAU JL, LO' PEZ ALMODO LF, VAR C, CAMACHO EG. (2015). Culture-negative Endocarditis: *Mycoplasma hominis* Infection. *Scientific letters. Rev Esp Cardiol*. **68(11)**: 1027–1038.
- RASTAWICKI W, KALOTA H, JAGIELSKI M, GIERCZYŃSKI R. (2004). Comparison of polymerase chain reaction assay and *Mycoplasma* IST 2 test with culture for

detection of infections caused by *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis*. *Med Dosw Mikrobiol.***56(1):**99-108.

RAZIN S, TULLY JG. (1983). *Methods in Mycoplasmology*. Academic Press Inc. London. Academic Press Inc. 111 Fifth Avenue New York. vol 1.

RAZIN S, YOGEV D, NAOT Y. (1998). Molecular Biology and Pathogenicity of Mycoplasmas. *Microbiology and Molecular Biology. Reviews.* 1092. **62(4):** 1094–1156.

REDELINGHUYS MJ, EHLERS MM, DREYER AW, LOMBAARD HA, KOCK MM. (2013). Comparison of the new Mycofast Revolution assay with a molecular assay for the detection of genital mycoplasmas from clinical specimens. *BMC Infectious Diseases.* **13:** 453.

ROBERTS MC, KOUTSKY LA, HOLMES KK, LEBLANC DJ, KENNY GE. (1985). Tetracycline resistant *Mycoplasma hominis* strains contain streptococcal tetM sequences. *Antimicrob Agents Chemother.***28:** 141–143.

RODRIGUES MM, FERNANDES PA, HADDAD JP, PAIVA MC, SOUZA MDO C, ANDRADE TC, (2011). Frequency of *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Mycoplasma genitalium*, *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma* species in cervical samples. *J Obstet Gynaecol.***31:** 237-241.

ROTTEM S. (2003). Interaction of mycoplasmas with host cells. *Physiol Rev.***83:** 417-32.

SALARI MH, HAFEZI R, KHOSRAVİPOOR H.(2002). Study of Mycoplasma and Ureaplasma Species as Contaminants of Cell Cultures, Department of Pathobiology, School of Public Health and Institute of Public Health Research, Tehran University of Iranian. *J. Publ. Health,* **31(3):** 126-128.

SARSAR K, AYDIN DM. (2010). Steril Piyürili Hastalarda *Ureaplasma urealyticum* ve *Mycoplasma hominis* Varlığının Araştırılması. İstanbul Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Çapa, İSTANBUL, *ANKEM Derg.***24(2):**82-85.

SCHAEVERBEKE T, RENAUDIN H, CLERC M, LEQUEN L, VERNHES JP, DE BARBEYRAC B. (1997). Systematic detection of mycoplasmas by culture and polymerase chain reaction (PCR) procedures in 209 synovial fluid samples. *Br J Rheumatol.***36:** 310-4.

SCHWEBKE JR, WEISS H. (2001). Influence of the normal menstrual cycle on vaginal microflora. *Clin Infect Dis.* **32(2):** 325.

- SEIFOLESLAMI M, SAFARI A, MARYAM K, HAYYAT KHA, MENEIE MK. (2015). Prevalence of *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis* in High Vaginal Swab Samples of Infertile Females. *Iran Red Crescent Med J.* **17(12)**: e16823.
- SERİN MS. (1993). Genitoüriner Sistemden İzole Edilen *Mycoplasma hominis* suşlarının prevalansı ile Antijenik Yapıları ve Humoral İmmüncvabın İmmunoblot Metodu İle Gösterilmesi. Çukurova Üni. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Bilim Uzmanlığı Tezi.
- SHANKAR EM, RAJASEKARAN S, RAO UA, PARAMESH P, KRISHNAKUMAR, R, RAJAN R, KOWNHAR H. (2005). Colonization of *Mycoplasma* in the upper respiratory tract of AIDS patients with pulmonary symptoms in Chennai. India. *Indian J Med Res.* **122**: 506- 510.
- SHEPARD MC, LUNCEFORD CD. (1976). Differential agar medium (A7) for identification of *Ureaplasma urealyticum* (human T mycoplasmas) in primary cultures of clinical material. *J Clin Microbiol.***3(6)**: 613- 25.
- SHIMELD LA, RODGERS AT, (1999). Essentials of Diagnostic Microbiology. New York: Thomson Delmar Learning; pp. 307-308.
- SMITH PF. (1971). The Biology of Mycoplasmas. Academic Press. Department of Microbiology. University of South Dakota. 111. Fifth Avenue. New York.
- SLEHA R, BOSTIKOVA V, SALAVEC M, BOSTIK P, SLEHOVA E, KUKLA R, MOSIO P, VYDRZALOVA M, MAZUROVA J. (2013). Mycoplasma Infections In Humans, Review Article. *Mil. Med. Sci. Lett. (Voj. Zdrav. Listy).* **82(4)**: 142-148.
- SKILJEVIC D, MIRKOV D, JELICA VUKICEVIC J. (2016). Prevalence and antibiotic susceptibility of *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* in genital samples collected over 6 years at a Serbian university hospital. *Indian J Dermatol Venereol Leprol.* **82 (1)**: 37-41
- SOBOUTI B, FALLAH S, MOBAYEN M, SNOORBAKHS S, GHAVAMI Y. (2014). Colonization of *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* in pregnant women and their transmission to offspring. *Iranian Journal of Microbiology.* **6(4)**: 219-224.
- SONG T, YE A, XIE X, HUANG J, RUAN Z, KONG Y, SONG J, WANG Y, CHEN J, ZHANG J. (2014). Epidemiological investigation and antimicrobial susceptibility analysis of ureaplasma species and *Mycoplasma hominis* in outpatients with genital manifestations. *J Clin Pathol.* **67(9)**:817-20.
- STELLRECHT K.A, AMY M, WORON, MISHRIK NG, RICHARD A, VENEZIA. (2004). Comparison of Multiplex PCR Assay with Culture for Detection of Genital Mycoplasmas. *Journal Of Clinical Microbiology.* **42(4)**: 1528–1533.

- TAYLOR DR. (2007). The role of mycoplasmas in pregnancy outcome. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology*. **21(3)**: 425–438.
- TEKEREKOĞLU M. (2010). *Mikoplazma, Ureaplazma ve Gardnerella*. , iys.inonu.edu.tr/webpanel/dosyalar/635. erişim tarihi: 12 Mart 2016.
- TINWEB.(Türk Enfeksiyon Web Sitesi). <http://www.infeksiyon.org.tr> ,Erişim tarihi: 10 Temmuz 2016.
- TOLGA B. (2006). Sığırların Genital Mikoplazma ve Ureaplazma İnfeksiyonlarının PCR ile Moleküler Teşhisi. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü Doktora Tezi.
- TURAN H, ÖZÇİMEN EE, ARSLAN H. (2011). Vajinitli kadınlarda *Mycoplasma hominis* ve *Ureaplasma urealyticum* sıklığı ve antimikrobiyal duyarlılığı. *ANKEM Derg.* **25(1)**:17-21.
- VARGOVIC M, PASINI M, PAPIĆ N, ANDRASEVIC S, MARKOTIC A, BUTIC I, SKERK V.(2013). Antimicrobial susceptibility of *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis*. *Sex Transm Infect.* **90**: 69.
- VERTERAMO R, PATELLA A, CALZOLARI E, RECINE N, MARCONE V, OSBORN J, CHIARINI F, DEGENER AM. (2013). An epidemiological survey of *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* in gynaecological outpatients, Rome, Italy. *Epidemiol. Infect.* **141**: 2650–2657.
- WAITES K.B, KATZ B, SCHELONKA RL.(2005). Mycoplasmas and Ureaplasmas as Neonatal Pathogens. *Clin Microbiol Rev.* **18(4)**: 757–789.
- WAITES K.B, RIKIHISA Y, ROBINSON D.T. (2007). Mycoplasma and Ureaplasma, Murray, P.R. Baron, E.J., Pfaller, M.A., Landry ,M.L., Jorgensen, J.H. (eds), *Manual of Clinical Microbiology*, 973-985.
- WAITES K.B, ROBERT L, SCHELONKA B, XIAO L, GRIGSBY PL, MILES J. NOVY C.(2009). Congenital and opportunistic infections: Ureaplasma species and *Mycoplasma hominis*. *Seminars in Fetal & Neonatal Medicine.* **14**: 190–199.
- WANG N. (1992). Epidemiological study on mycoplasmas colonization and infection in the female genital tract. *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi.***13(6)**:368- 71.
- WANG QY, LI RH, ZHENG LQ, SHANG XH. (2014). Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis* in female outpatientts, 2009-2013. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection.* <http://dx.doi.org/10.1016/j.jmil.2014.06.007>

WINN WC, KONEMAN EW, ALLEN SD, JANDA WM, SCHRECKENBERGER PC, PROCOPGW. (2005). Editors. *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.

WITKIN SS, KLIGMAN I, GRIFO JA, ROSENWAKS Z. (1995). *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis* detected by the polymerase chain reaction in the cervixes of women undergoing in vitro fertilization: prevalence and consequences. *J Assist Reprod Genet.* **12(9)**:610-4.

ZDRODOWSKA-STEFANOW B, KŁOSOWSKA WM, OSTASZEWSKA-PUCHALSKA I, BULHAK-KOZIOŁ V, KOTOWICZ B.(2006). *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis* infection in women with urogenital diseases. *Adv Med Sci.* **51**: 250-3.

ZHANG Q, WISE KS. (1997). Localized reversible frameshift mutation in an adhesin gene confers a phase-variable adherence phenotype in mycoplasma. *Mol Microbio.***25**: 859-69.

ZHENG X, TENG LJ, WATSON HL, GLASS JI, BLANCHARD A, CASSELL GH. (1995). Small repeating units within the *Ureaplasma urealyticum* MB antigen gene encode serovar specificity and are associated with antigen size variation. *Infect Immun.* **63 (3)**: 891-8.

ZHU C, LIU J, LING Y. (2012). Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis* in Chinese women with genital infectious diseases. *Indian J Dermatol Venereol Leprol.* **78(3)**: 406-7.

<http://www.klimik.org.tr> , Erişim Tarihi: 15 temmuz 2016.

<http://www.androloji.org.tr> , Erişim Tarihi: 22 Nisan 2016.

<http://www.cinsel-hastaliklar.net>. Erişim Tarihi: 25 Haziran 2016.

www.gsbs.utmb.edu/microbook/images/fig37_3.JPG). Erişim Tarihi: 22.06.2016

ÖZGEÇMİŞ

I-Bireysel Bilgiler

Adı Soyadı : Şükran ÖZTÜRK
Doğum yeri ve tarihi : Ankara/14.08.1979
Uyruğu : T.C
Medeni Durumu : Evli
İletişim Adresi : Yavuz Selim Mah.Atadostlar Sitesi 576. Sokak. No:2/11
3.Etap Eryaman-ANKARA
Telefonu : 05056652387
E-posta : sukranozturk79@gmail.com

II- Eğitim

2004-2007 Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Mikrobiyoloji
Anabilim Dalı Tezli Yüksek Lisans
1998-2002 Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü
Yabancı Dil İngilizce

III- Unvan

2002- Biyolog
2007- Uzman Biyolog

IV- Mesleki Deneyim

2010-2013 BOME SAN. ÜRÜNLERİ DIŞ.TİC.LTD.ŞTİ./ *Fabrika İdari Müdürü*
2009-2010 GALEPHARMA İLAÇ SAN. TİC. LTD.ŞTİ./ *Ürün Müdürü*
2005-2009 ARMA İLAÇ SAN. VE TİC.LTD.ŞTİ./ *Mikrobiyoloji Laboratuvar Müdürü*
2003-2005 VİLSAN VETERİNER İLAÇLARI SAN. VE TİC. A.Ş./ *Mikrobiyoloji Laboratuvar Sorumlusu*

V- Yayınlar

Merve Eylül Bozkurt Kıymacı, Banu Kaskatepe, **Sukran Ozturk**, Sulhiye Yıldız, Ahmet Akin. Correlation between antibiotic susceptibility and slime production of some staphylococci strains. Int. J. Curr.Res.Chem.Pharma.Sci. 1(8): (2014):91–95.

Posterler

Banu Kaşkatepe, **Şükran Öztürk**, Sulhiye Yıldız. Çeşitli Klinik Örneklerden İzole edilen Stafilocok Suşlarında Metisilin Direnci ve Slime İlişkisi. 11. Antimikrobik ve Kemoterapi Günleri, 18-20 Nisan 2014.

S.Ozturk, S.Yıldız;. Microbiological Quality Control of the Veterinary Injectable Vitamin Preparations Manufactured in Turkey. ISOPS 11th International Symposium on Pharmaceutical Sciences June 2015.

VI-Seminerler

Biyolojik Silahlar-- Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Mikrobiyoloji Yüksek Lisans Semineri (2006).

Türkiye' de Üretilen Veteriner Enjektabl Vitamin Preperatlarının Mikrobiyolojik Kalite Kontrolleri Üzerine Bir Araştırma. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Mikrobiyoloji Yüksek Lisans Tezi (2007).

MRSA (Metisiline Dirençli *Staphylococcus aureus*) , Enfeksiyonları ve Yeni Tedavi Ajanları. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Mikrobiyoloji Doktora Semineri (2010).

Mikoplazma Enfeksiyonlar, Teşhis ve Tanı Yöntemleri. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Doktora Semineri (2011).