



**T.C.**

**CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
PARAZİTOLOJİ ANABİLİM DALI**

**HEKSİTİDİN, KLİNDAMİSİN VE METRONİDAZOLÜN  
SİTOTOKSİSİTESİ VE *TRICHOMONAS VAGINALIS* ÜZERİNE  
*IN VITRO* ETKİSİ**

**Elif AKYOL**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Sivas 2014**

**T.C.  
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
PARAZİTOLOJİ ANABİLİM DALI**

**HEKSİTİDİN, KLİNDAMİSİN VE METRONİDAZOLÜN  
SİTOTOKSİSİTESİ VE *TRICHOMONAS VAGINALIS* ÜZERİNE  
*IN VITRO* ETKİSİ**

**Elif AKYOL**

**TEZ DANIŞMANI**

**Doç. Dr. Zübeyda AKIN POLAT**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Sivas 2014**

Bu çalışma Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanmış ve jürimiz tarafından Parazitoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan

\_\_\_\_\_

Üye

\_\_\_\_\_

Üye

\_\_\_\_\_

Üye

\_\_\_\_\_

Üye (Danışman)

\_\_\_\_\_

#### ONAY

Bu tez çalışması, 17/01/2014 tarihinde Enstitü Yönetim Kurulu tarafından belirlenen ve yukarıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Ali ÇELİKSÖZ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
MÜDÜRÜ

Bu tez Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 24.09.2008 tarihli ve 009 sayılı kararı ile kabul edilen Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzu adlı yönergeye göre hazırlanmıştır.

## ÖZET

### HEKSİTİDİN, KLİNDAMİSİN VE METRONİDAZOLÜN SİTOTOKSİSİTESİ VE *TRICHOMONAS VAGINALIS* ÜZERİNE *IN VITRO* ETKİSİ

Elif AKYOL

Yüksek Lisans Tezi, Parazitoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Zübeyda AKIN POLAT

2014, 53 sayfa

Bu çalışmanın amacı, heksitidin, klindamisin ve metronidazolün metronidazole dirençli ve hassas suşlarda *T. vaginalis* üzerine *in vitro* etkilerini ve sitotoksik potansiyellerini araştırmaktır.

Kamçılı bir protozoon olan *Trichomonas vaginalis*, hemen her toplumda görülen, insanın ürogenital sistemini etkileyen, kadınlarda çoğunlukla semptomatik ama erkeklerde sessiz seyreden bir enfeksiyona yol açar. Evriminde sadece trofozoit dönemi bulunan parazit, çoğunlukla cinsel yolla bulaşarak enfeksiyona neden olur. Tek konağı insandır. Hastalığın inkübasyon devresi 4-28 gündür. Kadınlarda vajinada, erkeklerde ise uretrada yerleşen *T. vaginalis*, yerleştiği bölgelerde dokular içine girmez fakat buradaki hücre ve dokular üzerine toksik etki oluşturur. Parazitin etkisiyle damarların genişlediği, kanamaların görüldüğü, çoğunluğu lenfositlerden oluşan yangı reaksiyonlarının geliştiği bildirilmiştir. Bu parazitozun tanısında çoğunlukla direkt inceleme, boyayarak inceleme ve kültür yöntemleri kullanılır. Hastalığın tedavisinde ise metronidazol, secnidazol gibi ilaçlar tercih edilir.

Heksitidin, klindamisin ve metronidazolün 50, 25, 12.5, 6.2, 3.1, 1.5 ve 0.7 mM konsantrasyonlarının L929 fibroblast hücreleri üzerine *in vitro* sitotoksik etkileri XTT yöntemiyle araştırıldı. Sitotoksosite sonuçlarımıza göre, metronidazol 12.5 mM konsantrasyonundan itibaren hücreler üzerine toksik etkisi göstermezken, diğer iki molekül deneyde kullanılan tüm konsantrasyonlarda, hücreler üzerine toksik etki gösterdi.

Araştırmada, deneyde kullanılan üç molekülün yine aynı konsantrasyonlarda metronidazole hassas ve dirençli *T. vaginalis* suşları üzerine *in vitro* etkisi, ölü-canlı

trofozoitleri ayıran Trypan blue boyası ile yapıldı. Her zaman aralığında (6., 12., 24., ve 48. saatlerdeki) trofozoitler inverted mikroskopta izlendi ve ölü-canlı trofozoitlerin sayısı belirlenerek kontrole göre yüzdesi hesaplandı. Heksitidin ve klindamisin moleküllerinde 50, 25 ve 12.5 mM konsantrasyonlarında 6. saatten itibaren canlı trofozoite rastlanmadı. Araştırmamızda kullandığımız üç molekül kıyaslandığında *T. vaginalis* üzerine toksik etkisinin en az olduğu molekülün metronidazol olduğu belirlendi. Metonidazolün 50 ve 25 mM konsantrasyonlarında canlı trofozoit belirlenemezken, diğer iki molekülden farklı olarak 12.5 mM konsantrasyonunda 6. saatte %11.2, 12. saatte %4.6 oranında canlı trofozoit belirlendi. Araştırmada, üç molekülün de etkisini metronidazole hassas ve dirençli suşlarda kıyasladığımızda, dirençli suşta canlılık yüzdesinin daha fazla olduğu tespit edildi. Bu fark üç molekülün, bütün konsantrasyonlarında anlamlı bulundu ( $p<0,05$ ).

Sonuç olarak; bakteriyel vajinit ve *T. vaginalis* enfeksiyonunda risk faktörleri benzerdir bu nedenle birlikte görülme ihtimalleri de yüksektir. Bakteriyel ve fungal etkenli vajinit tedavisi için piyasada heksitidin ve klindamisin içeren preparatlar bulunmaktadır. Araştırma sonuçlarımıza göre heksitidin ve klindamisin *T. vaginalis* üzerine etkisi metronidazolden yüksektir. Fakat, sitotoksik potansiyellerini göz önüne aldığımızda, *T. vaginalis* tedavisinde metronidazolün kullanılması en uygun tercih olacağı kanısındayız. Buna yanında yaptığımız *in vitro* deneyler, bakteriyel veya fungal etkenlerin neden olduğu vajinit olgularının tedavisinde kullanılan heksitidin ve klindamisin içeren preparatların, kişinin ek olarak *T. vaginalis* ile enfekte olması durumunda bu enfeksiyonu da tedavi edebileceğini düşündürdü. Bu konunun net bir şekilde ortaya konması için *in vivo* deneylere ve klinik araştırmalara ihtiyaç vardır.

**Anahtar Kelimeler:** *Trichomonas vaginalis*, heksitidin, klindamisin, metronidazol, sitotoksisite

## ABSTRACT

### CYTOTOXICITY of HEXETIDINE, CLINDAMYCIN and METRONIDAZOLE and THEIR IN VITRO EFFECTS ON *TRICHOMONAS VAGINALIS*

Elif AKYOL

Masters' Thesis, Department of Parasitology

Supervisor: Doç. Dr. Zübeyda AKIN POLAT

2014, 53 pages

The purpose of this study was to investigate *in vitro* effects on *T. vaginalis* strains, which were susceptible and resistant to metronidazole and cytotoxic potentials of hexetidine, clindamycin and metronidazole.

*Trichomonas vaginalis* which is a flagellate protozoan leads to an infection seen in almost every society, affecting urogenital system of humans, which is mostly symptomatic in women, but coursing silently in men. The parasite which has only the trophozoite period in the evolution, mostly transmits sexually, causing the infection. It's only host are humans. Incubation period of the disease is between 4 and 28 days. *T. vaginalis* which is located in the vagina in women and in the urethra in men, does not penetrate into the tissues found in the region in which it is located, but poses toxic effect on the cells and tissues found here. It has been reported that the vessels were dilated, hemorrhages were seen and inflammatory reactions, mostly due to the lymphocytes were developed by effects of the parasite. Mostly, direct examination, staining and culture methods are used for the diagnosis of this parasitosis. Medicines like metronidazole and secnidazole are preferred in the treatment of this disease.

*In vitro* cytotoxic effects of 50, 25, 12.5, 6.2, 3.1, 1.5 and 0.7 concentrations of hexetidine, clindamycin and metronidazole on L929 fibroblast cells were studied using XTT method. According to our cytotoxicity results, no toxic effect was found on the cells from 12.5 mM concentration of metronidazole, while the other two molecules showed toxic effects on the cells in all the concentrations used in the experiment.

In this research, *in vitro* effects of three molecules used in the experiment on the same concentrations of *T. vaginalis* strains, which were susceptible and resistant to metronidazole were carried out through the Trypan blue which distinguishes the dead-viable trophozoites. Trophozoites were monitored at each time interval (6., 12., 24., and 48. hours) using an inverted microscope, numbers of the dead-viable trophozoites were defined and the percentage compared to the controls was calculated. No viable trophozoite was observed from the 6th hour in 50, 25 and 12.5 mM concentrations of hexetidine and clindamycin molecules. When three molecules that we used in our research were compared; metronidazole was defined to be the molecule which had the least toxic effect on *T. vaginalis*. While we did not observe any viable trophozoites in 50 and 25 nM concentrations of metronidazole, unlike the other two molecules, viable trophozoites were found by 11.2% in the 6th hour and 4.6% in the 12th hour in the concentration of 12.5 mM. When we compared effects of each three molecules in the strains susceptible or resistant to metronidazole, percentage of the viability was found to be more in the resistant strain. This difference was significant in all the concentrations of each three molecules ( $p < 0,05$ ).

In conclusion; risk factors are similar in bacterial vaginosis and *T. vaginalis* infection and thus, probability of their association is high. Preparations containing hexetidine and clindamycin are available in the market for the treatment of bacterial and fungal vaginitis. According to our results, effects of hexetidine and clindamycin for the treatment of *T. vaginalis* are higher than metronidazole. However, given their cytotoxic potentials, we believe that use of metronidazole is the most appropriate choice in the treatment of *T. vaginalis*. In addition, *in vitro* experiments that we conducted suggest that preparations containing hexetidine and clindamycin that are used for the treatment of vaginitis cases caused by the bacterial and fungal agents would be additionally used for *T. vaginalis* infection. Further *in vivo* experiments and clinical research are needed for this issue to be clarified.

**Key words :** *Trichomonas vaginalis*, hexetidine, clindamycin, metronidazole, cytotoxicity



## TEŞEKKÜR

Tez alıŐmalarım boyunca yardımlarını ve desteğini benden esirgemeyen ve beni yönlendiren danışman hocam Sayın Doç. Dr. Zübeyda AKIN POLAT'a,

Parazitoloji Anabilim Dalı başkanı Sayın Prof. Dr. Semra ÖZÇELİK ve diğer bütün öğretim üyelerine,

Hayatımın her anında büyük özveriyle davranan ve desteğini hiç eksik etmeyen aileme Őükranlarımı sunarım.

## İÇİNDEKİLER

	<b><u>Sayfa No</u></b>
<b>ÖZET</b>	IV
<b>ABSTRACT</b>	VI
<b>TEŞEKKÜR</b>	VIII
<b>TABLolar DİZİNİ</b>	XI
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b>	XII
<b>SİMGELER DİZİNİ</b>	XIII
<b>KISALTMALAR DİZİNİ</b>	XIV
<b>1. GİRİŞ VE AMAÇ</b>	1
<b>2. GENEL BİLGİLER</b>	3
2.1. Sınıflandırma	3
2.2. Tarihçe	5
2.3. Morfolojisi	6
2.4. Üreme ve Yaşam Döngüsü	8
2.5. Metabolizma	9
2.6. Beslenme ve Büyüme	9
2.7. Epidemiyoloji	10
2.8. Patogenez ve Patoloji	14
2.9. Klinik Belirtiler	16
2.10. Tanı	17
2.11. İmmunoloji	20
2.12. Tedavi	21
2.13. Korunma	23
<b>3. MATERYAL-METOD</b>	25
<b>4. BULGULAR</b>	32

<b>5. TARTIŞMA-SONUÇ</b>	39
<b>6. KAYNAKLAR</b>	44
<b>7. ÖZGEÇMİŞ</b>	53

## TABLolar DİZİNİ

	<b><u>Sayfa No</u></b>
<b>Tablo 1.</b> Trichomonas cinsindeki insana yerleşen üç tür	4
<b>Tablo 2.</b> <i>T. vaginalis</i> 'in tarihçesi	5
<b>Tablo 3.</b> Hücre kültür ortamının hazırlanmasında kullanılan malzemeler	27
<b>Tablo 4.</b> Metronidazole hassas <i>T. vaginalis</i> suşu üzerine heksitidinin etkisi	33
<b>Tablo 5.</b> Metronidazole dirençli <i>T. vaginalis</i> suşu üzerine heksitidinin etkisi	33
<b>Tablo 6.</b> Metronidazole hassas <i>T. vaginalis</i> suşu üzerine klindamisininin etkisi	34
<b>Tablo 7.</b> Metronidazole dirençli <i>T. vaginalis</i> suşu üzerine klindamisininin etkisi	35
<b>Tablo 8.</b> Metronidazole hassas <i>T. vaginalis</i> suşu üzerine metronidazolün etkisi	36
<b>Tablo 9.</b> Metronidazole dirençli <i>T. vaginalis</i> suşu üzerine metronidazolün etkisi	36

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
<b>Şekil I.</b> <i>A. T. vaginalis</i> 'in şematik görünümü (AF-kamçı, RF-dalgalandan zar, N-çekirdek, PB-Parabazal cisim, CO-kosta, HY-Hidrojenozom) <b>B.</b> <i>T. vaginalis</i> 'in scanning elektron mikroskopundaki görünümü	7
<b>Şekil II.</b> <i>T. vaginalis</i> 'in dokular üzerindeki ameboid görünümünün scanning elektron mikroskopundaki görünümü	10
<b>Şekil III.</b> Hücre kültüründe kullanılan malzemeler	27
<b>Şekil IV.</b> L929 fibroblast hücre serisindeki hücrelerin ×200 büyütmedeki görünümleri	28
<b>Şekil V.</b> XTT solüsyonu eklendikten sonra turuncu renk almış mikroplate kuyucuklarının görünümü	30
<b>Şekil VI.</b> L929 fibroblast hücreleri üzerine heksitidin, klindamisin ve metronidazolün in vitro sitotoksitesi.	38

## SİMGELER DİZİNİ

°C	: Selsius derecesi
%	: Yüzde
g	: Gram
log	: Logaritma
μ	: Mikro
μl	: Mikrolitre
μm	: Mikrometre
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
mM	: Milimolar
mV	: Milivolt
P	: Random hata görülme olasılığı
ph	: Hidrojen potansiyeli
rpm	: Dakikada devir sayısı

## KISALTMALAR DİZİNİ

AD	: Adezyon proteini
AF	: Kamçı
ANOVA	: Varyans Analizi
ATCC	: American Type Culture Collection
CDC	: Center for Diseases Control
CDF	: Hücre Ayıran Faktör
CFU	: Colony Forming Unit
CO	: Karbonmonoksit
CO <sub>2</sub>	: Karbondioksit
CPLM	: Cysteine- peptone-liver-maltose
DFAT	: Direkt Floresan Antikor Testi
DMEM	: Dulbecco's Modified Eagle's Medium
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
ELISA	: Enzyme Linked Immunosorbent Assay
FBS	: Fetal Bovine Serum
FCS	: Fetal Calf Serum
HIV	: Human Immunodeficiency Virus / İnsan Bağışıklık Yetmezlik Virüsü
HÜKÜK	: Hücre Kültür Koleksiyonu
HY	: Hidrojenozom
IHAT	: İndirekt Hemaglunitasyon Testi
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	: Potasyum Fosfat Dibazik
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	: Potasyum Fosfat Monobazik
N	: Çekirdek
NaCl	: Sodyum Klorür
PB	: Parabazal Cisim
PBS	: Phosphate Buffer Saline
PCR	: Polymerase Chain Reaction
PEM-TV	: Plastik zarf yönemi

RF	: Dalgalandan Zar
RNA	: Ribonükleik Asit
SD	: Sapma Derecesi
SPSS	: Statistical Package for the Social Sciences
TIGR	: Genom Araştırma Enstitüsü
<i>T.buccalis</i>	: <i>Trichomonas buccalis</i>
<i>T.hominis</i>	: <i>Trichomonas hominis</i>
<i>T.intestinalis</i>	: <i>Trichomonas intestinalis</i>
<i>T.tenax</i>	: <i>Trichomonas tenax</i>
<i>T.vaginalis</i>	: <i>Trichomonas vaginalis</i>
TYI-S-33	: Modifiye Diamond Besiyeri
TYM	: Trypticase-Yeast-Exctract-Maltose
XTT	: 2,3-bis(2-methoxy-4-nitro-5-sulfophenyl)-5-[(phenylamino)-carbonyl]-2H-tetrazolium hydroxide



## 1. GİRİŞ ve AMAÇ

*Trichomonas vaginalis* hemen her toplumda görülen, insanın ürogenital sistemini etkileyen, kadınlarda çoğunlukla semptomatik ama erkeklerde sessiz seyreden bir enfeksiyona yol açan kamçılı bir protozoondur. Evriminde sadece trofozoit dönemi olan parazitin tek konağı insandır. *T. vaginalis* kadınlarda vajinada, erkeklerde ise uretrada yerleşen ve tedavi edilmediği takdirde ciddi rahatsızlıklara neden olan bir hastalık olarak bilinmektedir. İnsandan insana genellikle cinsel ilişki ile bulaşır [1]. Dünya sağlık örgütünün yaptığı bir çalışmada, dünyada bu enfeksiyonun bütün ülkelerde yaygın olduğu, her yıl yaklaşık 170 milyondan fazla yeni olgunun olduğu, beş milyondan fazla insanın da risk altında olduğu bildirilmektedir [2].

*T. vaginalis* yerleştiği bölgelerde dokular içine girmez fakat buradaki hücre ve dokular üzerine toksik etki oluşturur. Parazitin etkisiyle damarların genişlediği, kanamaların görüldüğü, çoğunluğu lenfositlerden oluşan yangı reaksiyonlarının geliştiği bildirilmiştir. Kadınlarda vajinadan yukarı gidebilen parazit vulvit ve vajinitin yanında bartolinit, endometrit, salpinjit ve bunlara ek olarak da sistit, üretrit ve piyelit yapabilir. Erkeklerde de üretradan girerek prostata, meni kesesine, epididime ve testise gidip, bu organlarla ilgili belirtilere neden olur. Trikomoniyozun kuluçka süresi 4-28 gündür. Belirtiler parazitin yerleştiği organa bağlıdır. Vulvada ve vajinada kızarıklık, yanma ve kaşıntı, ayrıca da akıntı vardır [1,3,4,5]. Tanısında klinik belirtiler ön tanı koymaya yardımcıdır ama kesin tanı laboratuvarında konur. İnceleme materyali, vajina ve üretra salgısı, prostat sıvısı ve bazen de idrardır. Bu örnekler, direkt inceleme, boyama yöntemleri ve kültür yöntemlerinden bir veya birkaçı incelenerek tanısı konur [6].

Tedavisinde esas partnerleriyle aynı anda tedaviye alınmasıdır. Tedavide en iyi sonuç 5-nitroimidazol (metronidazol) ile elde edilir. İlaç oral yoldan verilir, vajinal uygulamaların büyük oranda başarısız olduğu bildirilmiştir [1]. Metronidazolle uygun

tedavi dozları ile hastaların %86-%95'inin tedavi edilebildiği bildirilmiştir [7]. Tedavideki başarısızlığın nedeni olarak önce kişinin partneri sorumlu tutulmuş fakat yapılan *in vitro* çalışmalar *T. vaginalis* izolatlarının %2-9'unun metronidazole dirençli olduğunu göstermiştir [8,9] ve bildirilen dirençli izolatların oranı da gittikçe artmaktadır [10].

Klinikte vajina içine uygulanan ve vaginal antiseptik olarak kullanılan bazı ilaçların içindeki aktif madde, anti-bakteriyal ve anti-fungal bir ajan olan heksitidindir (.1,3-bis (2-etilheksil)-5-methylhexahydropyrimidin-5-amin). Buna ek olarak yine vajina içine uygulanan vajinal enfeksiyonlarda yaygın olarak, etken maddesi klindamisin olan preparatlar kullanılmaktadır. Bizim bu çalışmadaki temel amacımız; bu preparatlarla tedavi edilmeye çalışılan kişilerde kişi aynı zamanda *T. vaginalis*'le enfekte ise bu preparatların *T. vaginalis* üzerine nasıl etki ettiğini araştırmaktır.

Araştırmanın amacı 2 başlık altında toplanabilir:

1. Heksitidin, klindamisin ve metronidazolün sitotoksik potansiyellerini karşılaştırmalı olarak incelemek,
2. Heksitidin, klindamisin ve metronidazolün *T. vaginalis* üzerine *in vitro* etkisini metronidazole dirençli ve hassas suşlarda karşılaştırmalı olarak araştırmaktır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. SINIFLANDIRMA

*Trichomonas vaginalis*'in taksonomideki yeri aşağıdaki şekildedir [1].

Regnum (Alem) : Protista

Phylum (Şube) : Sarcomastigophora

Subphylum (Alt şube) : Mastigophora

Classis (Sınıf) : Trichomonadea

Order (Takım) : Trichomonadida

Family (Aile) : Trichomonadidae

Genus (Cins) : Trichomonas

Trichomonas cinsi içindeki üç tür (*T.vaginalis*, *T.tenax*, *T.hominis*) insan vücuduna yerleşebilir (**Tablo 1**). Bu türler morfolojik olarak benzerlik gösterse de kendilerine has anatomik yapıya sahiptirler [5].

**Tablo 1** : Trichomonas cinsindeki insana yerleşen üç tür (3,5)

<b>Türün Adı</b>	<b>Yerleştiği Kısım</b>	<b>Özellik</b>
<i>T. vaginalis</i>	Ürogenital sistem	Patojen bir türdür.
<i>T. intestinalis (T. hominis)</i>	Kalın bağırsakta yaşar.	Apatojen olarak kabul edilir. Bulaş yolu açıklığa kavuşmamıştır.
<i>T. tenax (T. buccalis)</i>	Ağız hijyeni kötü olan kimselerin diş ile diş eti arasındaki kıvrımlarda ve bademcik kıvrımları arasında yaşar.	Apatojen protozondur

## 2.2. TARİHÇE

İlk kez 1836 yılına Donne tarafından keşfedilen *T. vaginalis*'in genomu 2007 yılında açıklığa kavuşmuştur. Parazitin tarihçesinin ayrıntıları **Tablo 2**'de verilmiştir.

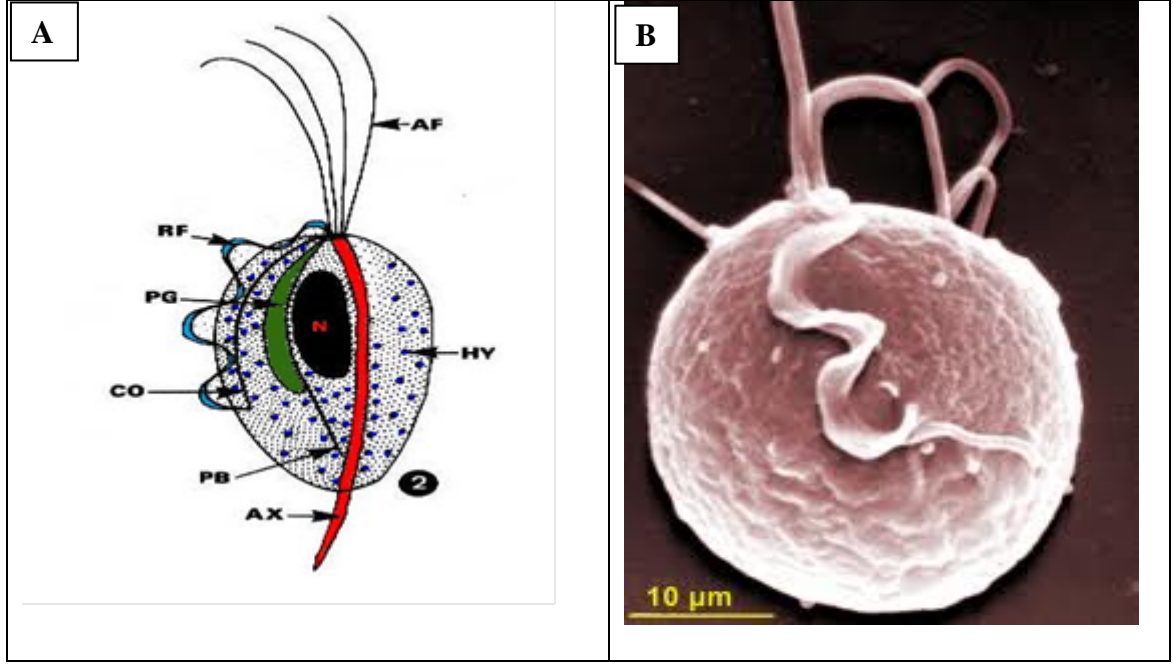
**Tablo 2.** *T. vaginalis*'in tarihçesi [1, 11, 12, 13].

Yıl	Açıklama
1836	<i>T. vaginalis</i> , ilk olarak Avrupalı doktor Alfred Donne tarafından vajinal akıntı ve genital irritasyon şikayeti ile başvuran bir kadının pürülan, köpüklü akıntısı içinde hareketli organizmalar olarak keşfedildi.
1916	O. Hohne <i>T. vaginalis</i> 'in klinik durumunu tanımlamak için “trichomoniasis” terimini kullanır.
1934-1939	L. Procaccini <i>T. vaginalis</i> 'i zührevi bir hastalık olarak tanımlar.
1940	R.E. Trussell vajinit tanısı konan 20 kadının 9'undan <i>T. vaginalis</i> 'i kültüre etmiştir.
1959	D.H. Clark ve E. Solomos <i>T. vaginalis</i> için rutin kültür yöntemini geliştirmişlerdir.
1960-1970	<i>T. vaginalis</i> 'in gelişme özelliklerini ve davranışlarını anlamak için biyokimyasal ve mikroskopik araştırmalar yapıldı.
1960	Trichomoniasis'in tedavisi için 5-nitroimidazol kullanıldı.
1980-2000	<i>T. vaginalis</i> 'in immünolojisini ve patogenezini anlamak için immünolojik ve moleküler yöntemler kullanıldı.
2007	Genom Araştırma Enstitüsü (TIGR) tarafından <i>T. vaginalis</i> 'in genomu dizilenmiştir.

### 2.3. MORFOLOJİSİ

*T. vaginalis*'in evriminde sadece trofozoit formu vardır, kist formu yoktur [14]. Trofozoit, taze preparatlarda boyu, 7-23 µm (ortalama 10 µm), eni ise 5-15 µm (ortalama 7 µm)'dir. Tespit edilmesi durumunda ebatları küçülür. Asit ortamında (pH. 5,5-5,8) küçük, alkale ortamda daha iridir [10]. Akselik kültürlerde vücudu iki yandan basık, armut veya oval şekildedir (**Şekil 1**), fakat parazit vajina epitel hücrelerine yerleşmesi durumunda çoğu kez ameboid şekil alır [15].

Çekirdeğin yukarısında bulunan kromatin taneciklerine blefaroblast adı verilir. Blefaroblasttan 5 kamçı çıkar [14,15]. Çekirdek ile dalgalı zar arasında parabazal cisim ve bu cisimciğin bir kenarında parabazal fibril bulunur. Elektron mikroskobu ile yapılan araştırmalarda hücre içi organellerin blefaroblast ve ince yapıda kinetozom adındaki oluşumla ilgili olduğu ve bu yapıya yapıştıkları gösterilmiştir. Kamçıların her biri kinetozomdan çıkar [3]. Kama benzeri silindir hiyalin çubuk olan aksostil nükleustan başlar ve parazitin posteriorundan çıkıntı yaparak sivri nokta şeklinde son bulur. Bu yapı paraziti boyuna iki parçaya ayırır. Bu yapının paraziti vajina epitel hücrelerine bağlamada yardımcı olduğu ileri sürülmüştür. Aksostile paralel üç sıra halinde granüller moleküler hidrojen üreten hidrogenozomlar bulunur. *T. vaginalis* sitoplazmasında glikojen granülleri de vardır. Parazit belirsiz bir sitostoma sahiptir (**Şekil 1**) [1,3,4].



**Şekil I. A.** *T. vaginalis*'in şematik görünümü (AF-kamçı, RF-dalgalanan zar, N-çekirdek, PB-Parabazal cisim, CO-kosta, HY-Hidrojenozom) (<http://www.pathologyoutlines.com/topic/cervixcytologytrichomonasvaginalis.html>), **B.** *T. vaginalis*'in scanning elektron mikroskopundaki görünümü (<http://its47.wikispaces.com>)

**Kamçılar:** Blefaroblasttan 5 kamçı çıkar. Bu kamçılardan 4'ü öne doğru serbest halde bulunur. Diğerleri ise ince non-kontraktil kosta tarafından tutulan dalgalı zar ile birleşerek arka uca kadar devam eder. Kamçılar ve dalgalı zar bu protozoona has bir titreme hareketi verir. Gelişimi için elverişsiz şartlarda kamçıları içine gömülür. Bazı araştırmacılar bu forma yalancı kist adını vermiştir. Kamçı enine kesiti incelendiğinde ortada bir çift, onun etrafında 9 çift filament bulunur [16,17].

**Hidrojenozomlar:** Parazitin karbonhidratların kısa zincirli organik asitlere parçalanmasını sağlar [5]. Bu yapılar, 0,5-1 µm çapında olup, etrafında çift katlı membran bulunur. Bu granüller parakostal ve paraksostil denilen iki grup halinde bulunur ve paraksostil *T.vaginalis*'e ayırt edici özellik katar [18].

**Çekirdek:** Geçirgen bir çekirdek zarı ile kaplanmıştır. İçinde çekirdekçik ve homojen dağılım gösteren kromatin granülleri bulunur. Çekirdek zarı etrafında onu çevreleyen endoplazmik retikulum bulunur [3,5,10,12,19].

**Dalgalı zar:** Hücre zarının bir parçası gibi bir kamçı ile birleşerek yaklaşık parazitin yarısına kadar uzanır. Bu yapı parazitin kendi etrafında dönmesini sağlar. Dalgalı zar altında kosta olarak bilinen aralıklı enine çapraz bağlantılar bulunur. Bunlar dalgalı zarı destekler [3,5,10,12,19].

**Hücre Membranı:** Paraziti çevreleyen çift katlı ve fosfolipit yapıda sıvı mozaik görünümündedir [3,5,10,12,19].

#### 2.4. ÜREME VE YAŞAM DÖNGÜSÜ

*T. vaginalis* tek konaklı bir parazit olup tek konağının insan olduğu bilinmektedir. Parazitin konak zinciri insan-insan-insan şeklindedir. Deneysel olarak sıçan ve kobayların vajinasında da yaşamını sürdürebilmiştir. İnsandan insana bulaş hemen daima cinsel ilişkiyle olmaktadır. Trofozoitler dış koşullara fazla dayanıklı olmayıp, su içinde bir saat içinde ölmektedir. Ancak idrar içinde 24 saat canlı kalabilmektedir. Kirli tuvalet eşyalarında 6 saat canlılıklarını koruyabilmektedir. Bu nedenle cinsel yolla bulaşın haricinde nadiren de olsa kirli tuvalet bezleri, tuvalet kâğıtları, klozet, havlu gibi materyallerden de bulaş olabilmektedir [3,5].

Parazit yerleştiği organda genellikle çekirdek zarı kaybolmadan boyuna ikiye bölünerek çoğalır. Bölünme sırasında yeni protozoonlarda iki kamçı bulunmakta, dalgalanan zar, kosta ve parabazal cisim bir hücrede kalmaktadır. Blefaroplast



çekirdeklerle birlikte ikiye bölünmekte ve oluşan iki yavru parazitte eksik organeller tamamlanmaktadır [20,21].

## **2.5. METABOLİZMA**

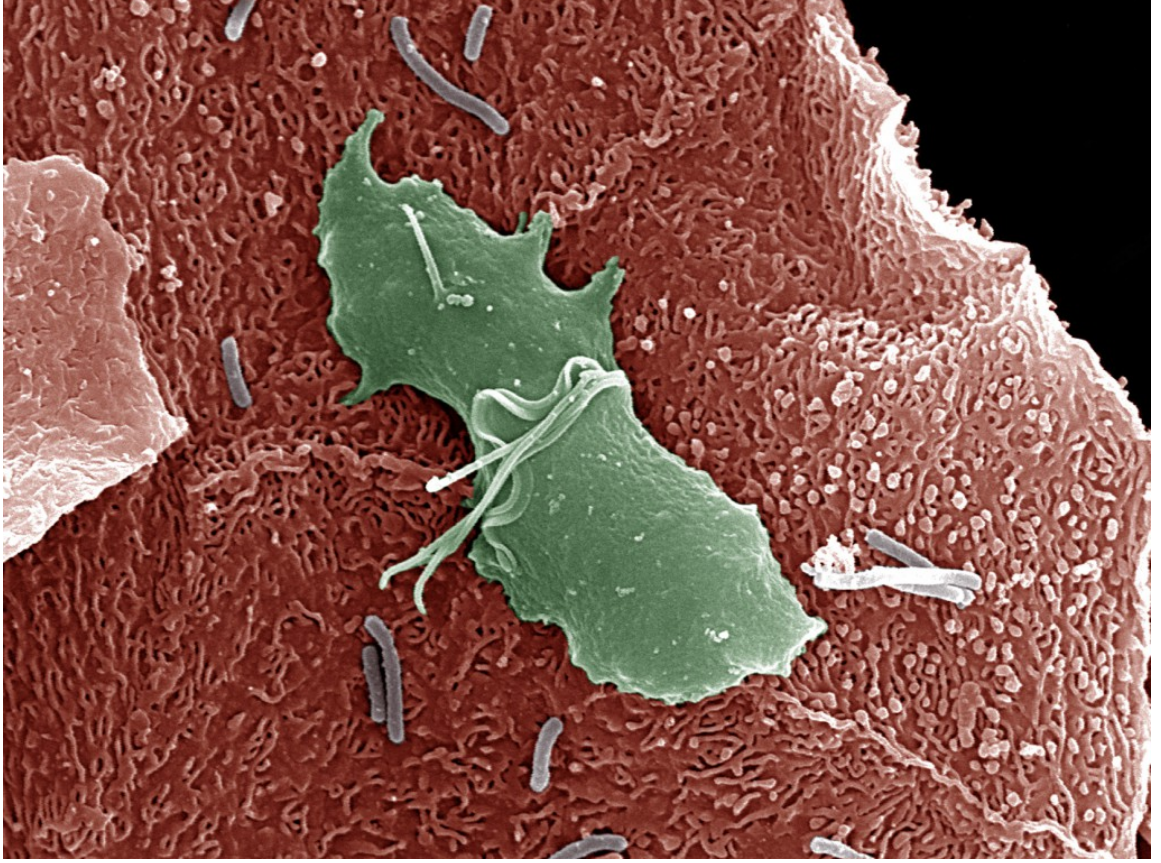
*T. vaginalis* metabolizmasına göre hem anaerop bakterilere hem de gelişmiş ökaryotlara benzer yönleri vardır. Aerop ve anaerop ortamlarda karbonhidratı fermantatif yollarla parçalamasıyla laktat, malat, asetat, gliserol ve CO<sub>2</sub> meydana getirirler. *T. vaginalis* enerji kaynağı olarak karbonhidratı kullanır ama karbonhidratın sınırlı olduğu durumlarda aminoasitleri büyüme, çoğalma ve hayatta kalmak için kullanabilir [22,23].

*T. vaginalis* için eritrositler, lipit ve demir önemli besin kaynaklarıdır [22,23]. Hidrojenozomlar, pirüvatın oksidatif fermantasyona uğradığı bölgelerdir.

*T. vaginalis*'te pürin ve pirimidin sentezi yoktur. Pürinlerin kurtarılması, nükleotid fosforilaz ve kinaz aracılığıyla; pirimidin kazanımı ise nükleotid kinazlarla olur. *T. vaginalis*, laktatın yanı sıra düşük miktarda etanol de üretir [24].

## **2.6. BESLENME VE BÜYÜME**

*T. vaginalis* osmoz ve fagositozla beslenir; bakteriler, vajina glikojeni ve konak hücreleri ile beslendiği gibi alyuvarları ve spermeri de fagosite edebilir [5]. *T. vaginalis* ameboid hareketlerle eritrositleri ve besin parçalarını alır (**Şekil II**). Protozon parazit, ortam nemine ve basınca çok duyarlıdır. Normalde pH'ı 3.4-4.5 olan vajina pH'ı alkaliye doğru değişince *T. vaginalis* için yaşam ortamı oluşmuş olur. Parazitin ideal yaşam koşulları 37 °C'dedir [1, 11].



**Şekil II.** *T. vaginalis*'in dokular üzerindeki ameboid görünümünün scanning elektron mikroskopundaki görünümü ([http://blog.advocatesaz.org/2011/10/03/sti-awareness-trichomoniasis/trichomonas-adhering\\_-2/](http://blog.advocatesaz.org/2011/10/03/sti-awareness-trichomoniasis/trichomonas-adhering_-2/)).

## 2.7. EPİDEMİYOLOJİ

### Ülkemizde Yayılışı

Ülkemizde bu hastalığın yayılışı üzerine sınırlı sayıda çalışma bulunmasına rağmen, büyük şehirlerimizde daha çok insidansa yönelik ve genelde risk altında olan kadınlarda bu hastalık araştırılmıştır. Araştırmalar, sosyal yaşantısı iyi olmayan kadınlarda ve hamile kadınlarda bu hastalığın çok daha fazla yaygın olduğu göstermiştir [3].

Ülkemizde yapılan çalışmalarda *T. vaginalis* saptanma oranı incelenen gruba göre değişmekle birlikte %3-70 arasında değişen çok farklı sonuçlar bildirilmektedir [25,26,27,28,29,30]. Saygı ve arkadaşlarının 1980 yılında, 217 örnekle yaptıkları çalışmada direkt mikroskopi ile 6(%2,9), kültürde 11(%5,1) pozitif olgu saptadığını

bildirmişlerdir [31]. Aynı araştırmacılar, 1143 örnekte direkt mikroskopi ile 28 (%2,4), hazır satılan Kupferberg besiyeri ile 48(%3,4) pozitif olgu bildirmişlerdir [32]. Suay ve ark. 1995 yılında Diyarbakır'da 300 hayat kadınından alınan örneğin 121 (%40.3)'inde direkt mikroskopi ile, 217 (%72.3)'sinde kültür yöntemi ile *T. vaginalis* bulmuşlardır [28].

Yücel ve ark. tarafından 1998 yılında İstanbul'da yapılmış olan çalışmada kadın hastalıkları polikliniğinden 592 vagina akıntı örneğinin 20 (%3.4)'sinde *T. vaginalis* görülmüş ve 19 (%3.2)'unda da kültürde üretilmiştir. Hayat kadınlarında ise çalışmaya alınan 917 örneğin 35 (%3.8)'inde direkt mikroskopi ile pozitif saptanmış, kültürde bu olguların 34 (%3.7)'ünde üreme olmuştur. On yıl öncesine göre de kıyasladıkları çalışmada, gerek hayat kadınlarında, gerekse poliklinik hastalarında trichomoniasis oranı azalmış ve bu azalış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur [33].

Doğan ve Akgün'ün 1998 yılında, vajinitlerde *T. vaginalis* görülme sıklığını araştırdıkları çalışmada, 711 hastadan aldıkları vajinal akıntı örneğinin mikrobiyolojik ve parazitolojik yönden incelenmesi sonucunda örneklerin 67'sinde (%9,4) *T. vaginalis* tespit etmişlerdir. *T. vaginalis* varlığı açısından olguları yaş gruplarına göre değerlendirdiklerinde, 20-40 yaşlarında belirgin bir artışın varlığını gözlemlemişler ve. olguları klinik bulgulara göre değerlendirdiklerinde akıntı, kaşıntı ve vajinal erozyonu olanlarda daha fazla parazite rastlandığını tespit etmişlerdir [34].

Kilimcioğlu ve ark., 1998 yılında mikroskopi ve kültür sonuçlarını karşılaştırmak amacıyla Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Doğum polikliniğine akıntı, kaşıntı, yanma gibi şikayetlerle başvuran 300 hastadan alınan örneklerin 25'inde (%8,3) çeşitli yöntemlerle *T. vaginalis*'e rastlamışlardır [35].

Daldal ve ark. 2002 yılında Malatya'da yaptıkları araştırmada, konsomatris olarak çalışan 33 kadında *T. vaginalis* insidansını araştırmış, 14 olguda (%42,4)

pozitiflik bildirirken, Akarsu ve ark. 2003 yılında yaptıkları araştırmada 246 genel ev kadınının %4.9'unda pozitiflik bildirmişlerdir [25,29].

Aydın ilinde 2003 yılında yapılan bir çalışmada vajinal akıntılı olgularda direkt inceleme ile %12, kültür ile %16 oranında *T. vaginalis* saptanmıştır [27]. stan ve ark.'nın 2005 yılında, Manisa'da yaptıkları bir çalışmada, 233 vajinitli hastanın 11'inde (%4,7), hem direkt bakı hem de kültür yöntemlerini kullanarak *T. vaginalis* saptamışlardır [36].

Ankara'da yapılan bir çalışmada Akarsu ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, 114 hastanın vajinal akıntı örneğini incelemiş ve 8 (%7) hastada *T. vaginalis*'e rastlamışlardır [37]. Aynı yıl ulha ve ark.'larının, Hatay'da yaptıkları çalışmada 275 vajinal akıntı rneği incelemiş ve %2,18 oranında *T. vaginalis*'e rastlamışlardır [38]. Selvitopu ve ark., 2006 yılının ilk iki ayında çeşitli nedenlerle Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Kadın Doğum polikliniğine başvuran, yaşları 20-60 arasında olan 61 kadını *T. vaginalis* yönünden incelemişlerdir. Araştırmacılar %3.2 oranında *T. vaginalis* saptamışlardır [39].

Değerli ve ark.'larının 2011 yılında,, Sivas Devlet Hastanesi, Kadın Hastalıkları Polikliniğine başvuran vajinit n tanılı kadınlarda *T. vaginalis* sıklığını araştırdıkları araştırmada, yaşları 17-80 arasında değişen toplam 258 kadının direkt mikroskopik inceleme ile 5'inde (%1.9), kültür yöntemiyle 4'nde (%1.5) *T. vaginalis* saptanmıştır [40].

Polat ve ark.'larının, Ankara'da 2011 yılında ayaktan tedavi için kadın hastalıkları ve doğum polikliniğine başvuran ve nonspesifik vajinal akıntısı bulunan hastalardan jinekolojik muayene sırasında alınan örneklere *T. vaginalis* sıklığını araştırdıkları çalışmada, 114 hastanın 8'inde (%7) direkt bakı ve kültür yöntemlerinin

her ikisini de kullanarak *T. vaginalis* saptamışlardır. Araştırmacılar, pozitif bulunan hastaların 2'sinin postmenopozal dönemde olduğunu tespit etmiştir [41].

Konya'da 2012 yılında Kadın Hastalıkları ve Doğum polikliniğine vajinal akıntı şikayeti ile başvuran 18-45 yaş grubundaki kadınlarda *T. vaginalis* görülme sıklığının araştırıldığı bir çalışmada, 70 hastanın 6'sında (%9) *T. vaginalis* saptanmıştır [30].

### **Dünyada Yayılışı**

Hem kadının hem erkeğin ürogenital sisteminde yaşayan *T. vaginalis* dünyada kozmopolit dağılım gösterir. Enfeksiyonun yaygınlığı, toplumun yaşama biçimine ve sosyokültürel yapısına göre değişir. Her yıl Amerika'da 7 milyon, dünyada ise 180 milyon kişinin *T. vaginalis* ile enfekte olduğu tahmin edilmektedir [2,5]. Enfekte kadınların eşlerinin %14-60'ında parazit bulunurken, erkek partnerleri enfekte olan kadınlarda %67-100 arasında değişen oranlarda parazit bulunmuştur [42]. Dünya Sağlık Örgütü'nün yaptığı bir çalışmada, dünyada bu hastalığın bütün ülkelerde yaygın olduğu, 170 milyondan fazla olgunun olduğu, 5.430 milyon insanın risk altında olduğu ve global olarak 128 milyon insanda bu hastalığın görüldüğü bildirilmektedir [2]. Ayrıca Amerika Birleşik Devletlerinde, Center for Diseases Control (CDC) 2000 yılında yayınladığı raporda, sadece Amerika'da yılda 8 milyon yeni Trichomoniosis olgusu görüldüğü, gelişmekte olan ülkelerde viral olmayan vajinal hastalıklar arasında trichomoniosisün %40 oranında yaygın olduğu ve bu enfeksiyonun en fazla görüldüğü ülkelerin Bangladesh, Güney Afrika ve Yeni Gine olduğu bildirilmektedir [3]. Polonya'da yapılan bir çalışmada, kadınlarda bulunan *T. vaginalis* prevalansının %26.6 ve %70 gibi oldukça yüksek oranlarda olduğu bildirilmiştir [43]. Afrika'da yapılan çeşitli çalışmalarda trichomoniosis prevalans oranının %11-25 arasında olduğu rapor edilmiştir [44,45,46]. Son yıllarda yapılan araştırmalarda, AIDS olgularında daha

yaygın olduğu bildirilmiştir. Laga ve ark.'ları yaptıkları araştırmada, Zaire'de HIV ile enfekte kadınlarda Trikomonas insidansını %38 oranında olduğunu rapor etmişlerdir [45].

## 2.8. PATOGENEZ VE PATOLOJİ

*T. vaginalis* insanın ürogenital sistemine girdiğinde her zaman enfeksiyon yapmayabilir. Ama yapılan deneysel çalışmalarda bu parazitin insanlar için patojen olduğu ve hastalık oluşturabileceği gösterilmiştir [45]. Hastalığın inkübasyon devresi deneysel çalışmalarda 4-28 gün olduğu görülmüştür. Trikomoniyoz, erkek ve kadında farklı bir kinlik tablo oluşturur. Yalnız, hastalık her iki eşeyde de kronik nadiren akut seyrettiği bildirilmiştir. Uzun zaman belirti görülmeyebilir [1,3,4,5].

*T. vaginalis* kendisi için gerekli enerjiyi vajina epitel hücrelerinden temin ettiği için vajina florasında bulunan ve glikojene gereksinimi olan *Lactobacillus acidophilus* üreyemez. Asit olan vajinanın bu nedenle de pH derecesi yükselir ve alkaliye doğru yaklaşır. Bu sayede *T. vaginalis* için gerekli ortam oluşmuş olur. Vajina mukozasında yangı meydana gelir. Hiperemilere, peteşiyel kanamalara, lökosit ve eritrosit bulunan infiltrasyon bölgelerine neden olur [11,22,48].

*T. vaginalis*, bulunduğu bölgelerdeki dokuların içine girmez ama buralardaki hücre ve dokular üzerinde toksik etki oluşturur. Dokularda damarlar genişler, yer yer kanamalar görülebilir. *T. vaginalis* ile yapılan çalışmalarda adezyon, hemolizis, proteolizis, hücre ayıran faktör ve sitotoksisite gibi virülans faktörleri saptanmıştır [1,3,5].

## **Virülans Faktörleri**

**a) Adezinler ve Aderens:** *T. vaginalis* farklı epitel hücrelerine yapışıp değişik semptomlara yol açar. Parazitin hücre yüzey proteinleri ve glikoproteinleri adezyonda önemlidir. Dört adezyon molekülü bulunur: AP65, AP51, AP33, AP23'tür. Adezyon moleküllerinin salınımı demir iyonuna bağlıdır. Demir iyonunun azalması bu moleküllerin salınımının azalmasına yol açar. Ortam sıcaklığının düşmesi de parazitin yapışma özelliğini azaltır [1,3,23].

**b) Hemolizis:** Parazitin önemli besinleri olan lipit ve demir, eritrositlerin lizisi ile sağlanır. Sistein proteinazlar hemolizde önemli maddelerdir [1,3,23].

**c) Proteinazlar:** *T. vaginalis* şu ana kadar tanımlanan en fazla sistein proteinaza sahip protozoondur [1,3,23].

**d) Temas bağımsız faktörler:** *T. vaginalis*'in glikozu metabolize etmesiyle oluşan laktik asit ve asetik asit etkisiyle pH, epitel hücrelere toksik etki gösterecek derecede düşer. Meydana gelen bu asitlerin hemoliz ve sitotoksik etkiden sorumlu olduğu düşünülür. Parazitin metabolik bir ürünü olan CDF (hücre ayıran faktör), ısı ve aside dirençli bir glikoproteindir. Bu molekül hücrelerin ayrılmasına yol açar. CDF üretiminin artışı ile hastalık şiddetinin artışı arasında doğru orantı vardır [1,3,23].

**e) Cinsiyet farklılıkları:** *T. vaginalis*, erkeklerde, kadınlara göre daha az virülan olup, daha az semptomatiktir. Ayrıca daha çabuk iyileşme olur. Testosteron in-vitro şartlarda patojenin üremesini engellerken, östrojen hormonu patojenin üremesini hızlandırır. Cinsiyet hormonu, pH farklılıkları ve prostattaki yüksek çinko konsantrasyonu da eşeylerde görülen enfeksiyon farklılığına etki eder [1,3,23].

**f) *T.vaginalis* RNA virüs:** P270 pozitif fenotipinde olan *T. vaginalis* suşlarının *T. vaginalis* RNA virüs denilen çift zincirli RNA virüs buldukları saptanmıştır [1,3,23].

## 2.9. KLİNİK BELİRTİLER

Trikomonioz çeşitli klinik tablolarda ortaya çıkmaktadır. Kadınlarda asemptomatik taşıyıcı tablodan ağır vajinite kadar değişiklik göstermektedir. Hastalığın yerleştiği organa göre, lokal hastalık belirtileri değişebilmektedir. Kadınlarda genellikle, vajinaya ve vulvaya yerleşen parazite bağlı olarak, vajina ve vulvada şiddetli kızarıklık, yanma, kaşıntı, az veya çok miktarda köpüklü, kötü kokulu bir akıntı bulunmaktadır [1,3]. Akıntı şekline göre parazit varlığı karşılaştırıldığında; yeşil kötü kokulu akıntıya sahip olma ile parazit görülme arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmuştur [49]. Vajina mukozasının muayenesinde karakteristik olarak ağaç çileği görünümünde olduğu ve ağaç çileği manzarası olarak adlandırılan bu görüntü hastaların sadece %2'sinde saptanmaktadır [50].

Enfeksiyonun şiddetine göre trichomoniosis; akut, kronik ya da asemptomatik olarak sınıflandırılır. Akut enfeksiyon durumunda diffüz vulvit oluşur. Vulvada irritasyon ve acı duyulur. Kronik enfeksiyonda ise belirtiler orta şiddettedir. Kaşıntı ve dispareni görülür. Akıntı özellikle menstrasyon sonrası periyodik aralıklarla yıllarca sürer. Enfekte kadınların %50'den fazlasının asemptomatik olduğu görülmüştür [12]. Erkeklerde enfeksiyon çoğunlukla asemptomatik seyretmektedir ve bu kişilerin paraziti yaydıkları düşünülmektedir. Hastalık genelde üretra, epididim veya prostata yerleştiğinden, hastada uretrit, prostatit veya epididimit belirtileri görülür. Semptomatik erkeklerde genellikle az berrak ya da mukopürülan akıntı, dizüri, orta şiddette kaşıntı, cinsel ilişki sonrası yanma gibi belirtiler görülür [1,3].



## **2.10. TANI**

### **2.10.1. Etyolojik Tanı**

Tanıda doğru seçim, parazitin bulunup tanınmasıdır. Basit olan bu yöntemde parazitin bulunması için tecrübeli kişilere ihtiyaç vardır. Tanıda inceleme materyali vajina ve üretra salgısı, masajla elde edilen prostat sıvısı bazen de idrardır. Kadınlarda vajinal akıntıyı en iyi şekilde elde edebilmek için, spekulumla vajina açılır ve arka fornikstensteril bir eküvyon veya pipetle akıntı alınır [3,5].

#### **2.10.1.1. Direkt inceleme**

Uygun yöntemlerle alınan örnek serum fizyolojik veya ringer solüsyonu içinde karıştırılarak, 10-20 dakika içinde incelenir. *T. vaginalis* canlılığını kaybedeceğinden süre daha uzun tutulmamalıdır. Kendi üzerinde dönerek hareket eden parazitler hareketli olarak görülür. Geniş uçtaki kamçıların görülmesi zor olmakla birlikte, parazitin ön kısmındaki mikroskobik cisimlerin hareketiyle kamçıların hareket ettiği gözlenebilir. Parazitler hareketsiz veya preparat hazırlandıktan hemen sonra incelenmedi ise parazitler diğer vücut hücreleri özellikle de lökositlerle karıştırılabilir. Direkt inceleme çok hızlı ve ucuz bir yöntem olmasına rağmen bu yöntemin duyarlılığı %60-70 arasındadır [51].

#### **2.10.1.2. Boyama yöntemleri**

*T. vaginalis*'in tanısı için Giemsa, may-grunwald, akridin oranj, aseto-orsein, hematoksilin-eosin boyama yöntemleri sıklıkla kullanılır. Jinekolojik taramada en sık Papanicolaou yöntemi kullanılır [20].

- a) **Giemsa boyama yöntemi:** Vajinal akıntı bir lam üzerine yayılır. Preparatın tespit edilmesinin ardından Giemsa ile boyanarak mikroskopta immersiyon

objektifi ile inceleme yapılır. Bu şekilde trikomonaların çekirdekleri kırmızı, sitoplazması mor renge granüllü olarak görülür; kamçılar, dalgalı zar ve aksostil bu yöntemle iyi boyalar [3,52].

- b) May-grünwald boyama yöntemi:** Trikomonaların nükleusu soluk renkte, sitoplazması açık mavi renkte görülür [53].
- c) Akridin oranj boyama yöntemi:** Bu boyama yönteminde, lamalar amies solüsyonu (etanol, civa klorür, susuz sodyum asetat, sukroz) içine daldırıldıktan sonra kurutulur. Bu hazırlanan lamalar üzerine vajinal akıntı yayılır, havada kuruduktan sonra bu yaymalar 24 saat içinde boyanır. Trikomonas trofozoitleri sarımsı yeşil çekirdek boyanırken, bakteriler parlak kırmızı renkte, epitel hücreler parlak yeşil renkte görülür [52,53].
- d) Aseto-orsein boyama yöntemi:** Bir tüp içerisinde aynı miktarda vajinal akıntı ile boya solüsyonu karıştırılarak 5-10 dakika bekletildikten sonra lam üzerine yayılır kuruduktan sonra immersiyon objektifi ile inceleme yapılır. Bu şekilde sitoplazma açık kırmızı, çekirdek koyu kırmızı granüllü görülür [53].
- e) Hematoksilen-eosin boyama yöntemi:** Önceden yumurta akı ve timol karışımı sürülerek kurutulmuş lamalar üzerine vajinal akıntı yayılır. Oda sıcaklığında kurutulan lamalar hematoksilen-eosinle boyanır. Bu şekilde çekirdek pembe-mor granüllü, sitoplazma daha açık renkte ve granüllü olarak boyanmış görülür [52,53].
- f) Papanicolaou yöntemi:** Önceden yumurta akı ve timol karışımı sürülerek kurutulmuş lamaların üzerine vajinal akıntı yayılır, havada kuruyan yaymalar papanicolaou ile boyanır. Çekirdek mavi-siyah renkte, sitoplazma mavi-gri renkte görülür [53].

### **2.10.1.3. Kültür Yöntemi**

Kültür yöntemleri, *T. vaginalis* tanısında değerli bir yöntemdir. Farklı besiyerlerinin kullanıldığı kültür yönteminin %95'in üzerinde hassas olduğu belirlenmiş ve bundan dolayı trichomoniosis tanısında altın standart olarak kabul edilmektedir. Kültür yöntemi tanıda duyarlılığı en yüksek yöntem olmasına karşın, zaman alıcı ve zahmetli olması nedeniyle yaygın olarak kullanılmamaktadır. Trikomoniyoz tanısında direk mikroskopik inceleme ve kültür yöntemleri birlikte kullanılması önerilmektedir [56,57].

*T. vaginalis* için birçok besiyeri tarif edilmekte olup, Kupferberg besiyeri, In Pouch TV Kültür Sistemi, , Cysteine-peptone-liver-maltose (CPLM) besiyeri, plastik zarf yöntemi (PEM-TV), Trypticase-Yeast-Extract-Maltose (TYM) besiyeri, Modifiye Thioglikolatlı, TYI-S-33 besiyeri günümüzde en iyi sonuç alınan besiyerleridir [55,56,57,58].

### **2.10.2. Serolojik Tanı**

Laboratuvar şartları uygunsa serolojik tanıya da gidilebilir fakat bu yöntem rutin incelemelerde pratik değildir. Belirti göstermeyen, vajinal akıntıda parazit görülemediği zaman, epidemiyolojik çalışmalarda ve vajinal akıntının elde edilmesinin mümkün olmadığı zamanlarda serolojik tanı serolojik yöntemlerden yararlanır. *T. vaginalis*'in tanısında kullanılan serolojik testleri şunlardır: İndirekt Hemaglunitasyon Testi (IHAT), İndirekt Floresan Antikor Testi, Direkt Floresan Antikor Testi (DFAT) ve Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) testidir [2,5].

### 2.10.3. Moleküler Tanı

*T. vaginalis* tanısında PCR yönteminin kullanımı günümüzde gittikçe artmaktadır. Riley ve arkadaşları 1992 yılında TVA5 ve TVA6 primerlerini tespit etmiş [60]. Daha sonra sensitivitesi %85-100 arasında değişen birçok primer seti yayınlanmıştır [1]. Bu enfeksiyonun tanısı erkeklerde çok daha zor olmakta, PCR tekniği bu durumda daha sensitif kabul edilmektedir [61].

### 2.11. İMMÜNOLOJİ

*T. vaginalis*'e karşı insanların dirençleri farklıdır. Direnç yönünden eşeyler arasında da ayrıcalık vardır. Bu parazitin neden olduğu parazitöz erkeklerde çoğunlukla sessiz devam ederken, kadınlarda çeşitli tepkiler görülür. Bu farkın üretraya kıyasla direnci daha düşük olan vajina ortamının asiditesinin ve hormonlarının rol aldığı belirlenmiştir [5].

Maymun, guina, ratlar, fare, sığır, hamster ve köpeklerde enfeksiyon denenmiş ama bu hayvanların çoğunda enfeksiyonun devamının sağlanması, semptomatik hastalığın gelişmesi, zayıf immun yanıt gibi sıkıntılar yaşandığı belirtilmiştir. Ayrıca erkek modeli ile ilgili çok az miktarda çalışma bulunmaktadır [20,62].

*T. vaginalis*'e karşı oluşan immun yanıtla ilgili bilgiler insanlardaki immun yanıt araştırmalarında, *in vitro* modellerde ve hayvan modellerindeki çalışmalara dayanır.

Doğal enfeksiyonun immunité oluşturduğu ve bu immun yanıtın sadece kısmi bir koruma sağladığı bildirilir. Mukozal immun sistem, dişi üreme sisteminde patojenik organizmanın karşılaştığı birinci koruma mekanizmadır. Hümorale ve hücresele immun yanıt birlikte görülür. Lenfositler uyarılınca sitokin üretimi, sitotoksik etkiler ve antikor üretimi görülür [1,5,63].

Günümüze kadar *T. vaginalis*'e karşı "Solco Trichovac" isimli bir aşı geliştirilmiştir. Bu aşı *T. vaginalis*'in vajendeki normal laktobasillerin gelişimini uyardığı ve anormal laktobasillere karşı antikor yanıtını indüklediği varsayılarak inaktif laktobasillerden hazırlanmıştır [64]. Abraham ve ark. aşı geliştirmek amacıyla farelerde *T. vaginalis*'e karşı immüniteyi uyarmada başarılı olmuşlardır [65].

## 2.12. TEDAVİ

*T. vaginalis* enfeksiyonunun tedavisinde cinsel ilişkide bulunan bireylerin birlikte tedavi olması şarttır. Aksi takdirde tedavi başarısız olur. Trikomonyoz tedavisinde en etkili preparatlar, nitroimidazol türevleri olan metronidazol, secnidazol, tinidazol, ornidazoldür [1,5,68].

Metronidazol, 1957'de bulunmuş, protozoonlara ve anaerobik bakterilere karşı etkin sentetik bir ilaçtır. Kimyasal yapısı, 1-(2-hydroxyethyl)-2-methyl-5-nitroimidazole şeklindedir. Bu molekül hücre içine pasif difüzyonla girdikten sonra bir dizi tepkimedden sonra kısa yarı ömürlü metabolitleri ortaya çıkar. Metronidazol hücre içine girdikten sonra, serbest radikallere dönüşerek hücrenin DNA'sına bağlanır ve DNA replikasyonunu durdurarak hücrenin ölümüne yol açar. Metronidazol, ağızdan alınırsa ince bağırsakta tamamen emilerek kana geçer ve tüm dokulara yayılır [3].

Metronidazol, oral olarak alındığında hızlı ve tama yakın olarak emilir. Biyoyararlılığı %100'e yakındır. Gıdalar emilimini geciktirse bile biyoyararlılığını değiştirmez. Proteinlere bağlanma oranı %1-20'dir. Metronidazolün %6-18'i idrarla dışarı atılır. Geri kalanı karaciğerde metabolize edilerek antimikrobiyal etkinliği bulunan metabolitlerine parçalanır. Asıl atılma yolu ise böbreklerdir [67,68].

Genellikle iyi tolere edilir. Metronidazolün yaygın yan etkileri mide bulantısı, kusma, baş ağrısı, uykusuzluk, baş dönmesi, uyuşukluk, isilik ve ağız kuruluğudur. Bu

yan etkiler bazı hastaların metranidazol tedavisine ciddi ters tepkiler göstermesine rağmen genellikle hafiftir. Ciddi yan etkileri nadirdir ama kanda eozinofil lökositlerin çoğalması, kanda lökosit sayısının azalması, kalp çarpıntısı, bilinç bulanıklığı ve çevresel nöropati gibi yan etkiler de vardır [67,68].

Trichomoniosis tedavisinde 3×250 mg'lık doz ile 7 gün kullanılır veya tek doz 2 g metronidazole ile tedavi edilebilir. Diğer bir tedavi şekli ise birinci gün 6 saat arayla birer gram ve ikinci günde birer gram verilerek uygulanan tedavi türüdür [67,68].

Secnidazol de bir nitroimidazol türevidir. Metronidazolün yan etkileri görüldüğünde ve tedavinin biraz uzun sürmesi durumunda onun yerine secnidazole kullanılabilir. Etki mekanizması metronidazole benzer. Bu ilaç, 2 g tek doz halinde ağızdan alınır, üç saat sonra kanda en fazla seviyeye ulaşır. Diğer nitroimidazole türevlerine göre kanda daha uzun ve fazla yoğunlukta kaldığından tek doz tedavisi başarılı olur. Yan etki olarak çok nadiren kusma ve bulantı görülebilir [3,67,68].

Tinidazol yine metronidazole dirençli trikomonyoz enfeksiyonlarında kullanılabilir fakat ama metabolik geçiş yollarının benzerliğinden dolayı tinidazole direnç daha hızlı oluşabilir. Tinidazolün metronidazolden daha az mide ile ilgili yan etkileri vardır ama daha az bulunması ve daha yüksek maliyeti olmasından dolayı kullanımı sınırlanabilir. *In vitro* çalışmalar, *T. vaginalis*'e karşı tinidazolün aerobik minimum öldürücü yoğunluğunun daima metranidazolden 1 ya da 2 kat daha az seyreltik olduğunu göstermiştir. Tedavi dozu olarak, 0,5 g'lık tabletlerden sabah ve akşam yemekten sonra iki adet ağızdan alınır ve 3-5 gün tedaviye devam edilir [5,67].

Tinidazolün metronidazolden daha az mide ile ilgili yan etkileri vardır [68]. Yan etkileri, genellikle sınırlı ve hafif olup en sık gastro-intestinal sistemle ilgili olan tat almada değişiklik, bulantı, kusma, epigastrik ağrı, iştahsızlık ve kramplar gibi yan

etkiler görülür. Bunlar dışında halsizlik, yorgunluk, baş ağrısı ve baş dönmesi görülebilir [69].

Ornidazol, metronidazole ve tinidazole alternatif olarak kullanılabilir. Etki mekanizması metronidazole olduğu gibidir. Tedaviye 3-5 gün devam edilir; sabah ve akşam yemeklerden sonra ağızdan 0,5 g'lık tabletlerden ikişer adet alınır [5,69]. Yan etki olarak, bulantı, kusma, diyare, kramplar ve epigastrik ağrı görülür. Bunlar dışında, halsizlik, baş dönmesi, baş ağrısı, uyuklama, güçsüzlük, lökopeni ve deride kaşıntı görülebilir [69].

### **2.12.1. Diğer Tedavi Şekilleri**

Hamisin, Hindistan'da topikal olarak kullanılır. Düşük yoğunlukta bile metronidazole duyarlı ve dirençli suşlarda etkili olduğu anlaşılmıştır. Trikomonas enfeksiyonlarına karşı *Lactobacillus acidophilus* kullanımı da önem kazanmıştır. Vajene sulu laktik çözeltileriyle lavajlar yapılarak pH 6'dan aşağıya düşürülür. Ayrıca bunun için vajene, içerisinde gümüş picrate veya furazolidon olan suppozitivar uygulanabilir Antibiyotik ve sulfonamidlerin tedaviye katılması da faydalı olabilir [67,68,69].

### **2.13. KORUNMA**

*T. vaginalis* 'in kaynağı enfekte insanlardır. Cinsel temasla bulaşan bu hastalıktan önlem alındığında korunmak mümkündür. Bu enfeksiyonun önlenmesinde öncelikle vajinadan, vulvadan veya üretradan akıntı geldiği görüldüğünde, klinik belirti olsun ya da olmasın doktora başvurulmalıdır. Bunun yanında, tanısı konulan kişinin mutkaka partnerinin de tedavi edilmesi gerekir. Özellikle klozetlerin ve tuvalet eşyalarının temizliğine dikkat edilmeli ve temizliğinden emin olunmayan yüzme havuzları da kullanılmamalıdır. Evlilik dışı tüm cinsel ilişkilerde kondom kullanılması yine alınacak

önlemler arasındadır. Halka bu parazitoz hakkında bilgi verilmeli ve hastalığın bulaşma şekilleri ayrıntılı olarak anlatılmalıdır. Genelevlerdeki kadınlar düzenli olarak muayene olmalıdır [1,3,5].



### 3. MATERYAL-METOD

#### 3.1. **Moleküller:**

Araştırmada, heksitidin (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA), clindamycin hydrochloride (Applichem, Darmsland, Germany, ve metronidazol (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) kullanılmıştır. İlaçların hem *T. vaginalis* üzerine *in vitro* etkisini incelemek için hem de sitotoksik potansiyellerini değerlendirmek için 50, 25, 12.5, 6.2, 3.1, 1.5 ve 0.7 milimolar (mM) konsantrasyonları kullanılmıştır.

#### 3.2. **T. vaginalis suşlarının elde edilmesi ve üretilmesi:**

3.2.1. ***T. vaginalis* suşlarının elde edilmesi:** Araştırmamızda bir metronidazole dirençli suş (ATCC 50138) ve bir de metronidazole hassas *T. vaginalis* suşu (ATCC 30001) American Type Culture Collection (ATCC)'dan elde edilmiştir.

3.2.2. ***T. vaginalis* suşlarının üretilmesi:** Parazitlerin üretilmesi için %15 fetal calf serum (FCS) ve %1 Penisilin-streptomisin eklenmiş olan TYI-S-33 besiyeri kullanıldı. Besiyerinin içeriği; 1,0 g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0,6 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 2,0 NaCl, 20,0 g casein digest peptone, 10,0 g yeast extract, 10,0 g glukoz, 1,0 g L-cysteine-HCl, 0,2 g askorbik asit, 1.0 ml Ferric Ammonium Citrate (22.8 mg/ml), 870,0 mL damıtık sudan oluşmaktadır. Besiyerinin pH'ı 6.8'e ayarlandıktan sonra 121 °C'de 15 dakika steril edildi. Sterilizasyondan sonra steril şartlarda içine %1 oranında Vitamin No:13 karışımı eklendi.

3.2.3. ***T. vaginalis* trofozoitleri üzerine ilaçların *in vitro* etkisinin araştırılması:** Deneyler 6 kuyucuklu, steril plaklarda gerçekleştirildi. Besiyerinde üretilen trofozoitler sanrifüj edilecek ve her kuyucuğa  $10^3$  trofozoit/mL olacak şekilde dağıtıldı ve ilaçların herbir konsantrasyonu %15 FCS eklenmiş TYI-S-33 besiyeri içinde hazırlanarak trofozoitler üzerine eklendi. Trofozoitlerin morfolojisi, 6., 12., 24. ve 48. saatlerde hem inverted mikroskopta izlendi, hem de bu zaman aralıklarında canlı ve ölü trofozoit sayısı trypan blue kullanılarak toma lamında sayılarak belirlendi. Deneyler beş tekrarlı yapıldı.

### 3.3. **Hücre Kültürü**

Çalışmada ŞAP Enstitüsü Hücre Kültür Koleksiyonuna (HÜKÜK) ait L929 fare fibroblast hücre serisi kullanıldı.

#### 3.3.1. **Besiyeri hazırlığı**

Hücre kültüründe kullanılacak besiyeri, Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) içerisine penicilin-streptomisin, L-glutamin ve fetal bovine serum (FBS) ilave edilerek hazırlandı (**Tablo 3, Şekil 3**)

**Tablo 3.** Hücre Kültür ortamının hazırlanmasında kullanılan malzemeler

HÜCRE KÜLTÜR BESİYERİ	KULLANILAN MİKTAR	FİRMA
Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM)	100 ml	WISENT Inc St. Bruno, Quebec, Canada
Penicilin-Streptomisin (10000 U/10000 Mg/ml)	1 ml	Biological Industries, Berlin
L-glutamin	1 ml	Biochrom KG, Berlin
Fetal Bovine Serum (FBS)	10 ml	WISENT Inc St. Bruno, Quebec, Canada



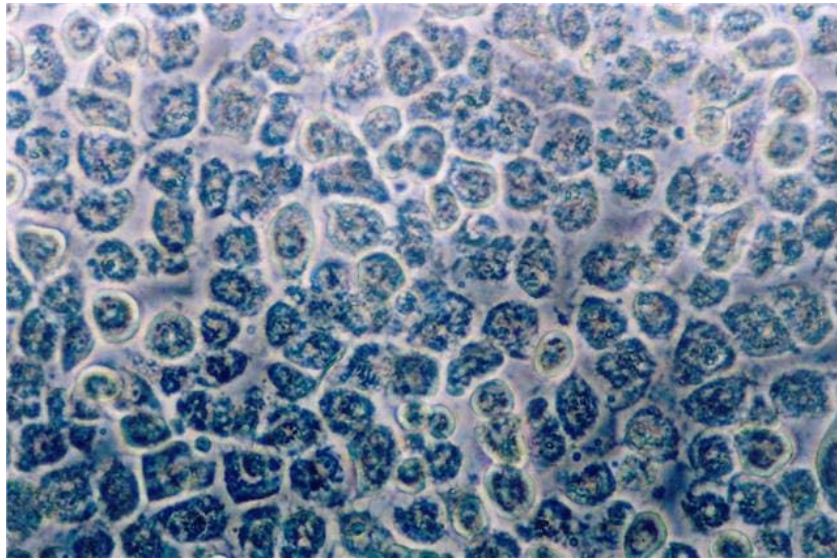
**Şekil III.** Hücre Kültüründe kullanılan malzemeler

Çalışma süresince kullanılacak L929 hücre serisinin devamının sağlanması ve çoğaltılması için pasajlar yapıldı.

### 3.3.2. Pasaj Yapılması

Hücrelerin yapışarak çoğaldığı hücre kültür kabındaki (flask) besiyeri aspire edildi. Phosphate buffer saline (PBS) ile hücreler yıkandıktan sonra Tripsin/EDTA solüsyonu (0,05 trypsin+%0,02 EDTA, WISENT Inc St. Bruno, Quebec, Canada) hücreler üzerine eklendi ve 37 °C'de 5 dakika etüvde bekletilerek hücrelerin flask yüzeyinden ayrılması sağlandı. FBS içermeyen DMEM ilave edilerek tripsin aktivasyonu durduruldu ve hücre süspansiyonu hazırlandı. Hazırlanan hücre süspansiyonu iki flask'a bölünerek pasajlandı. Hücre kültür kaplarındaki hücre çoğalması izlenerek bu işlem tekrarlandı ve hücre kültür serisinin devamlılığı sağlandı.

Çalışmada L929 fibroblast hücre serisinin 6. ile 11. pasajlar arasındaki hücreleri kullanıldı (Şekil IV).



**Şekil IV.** L929 fibroblast hücre serisindeki hücrelerin  $\times 20$  büyütmedeki görünümleri

### 3.3.3. Sitotoksisite Testi

İlaçların karşılaştırmalı olarak sitotoksik potansiyelleri XTT;(2,3-bis(2-methoxy-4-nitro-5-sulfophenyl)-5-[(phenylamino)-carbonyl]-2H-tetrazolium hydroxide) testi ile araştırıldı.

*XTT çalışma öncesi yapılan işlemler;*

1. Hücreler phosphate buffer saline (PBS) ile 2 kez yıkanıp Tripsin/EDTA ilave edildi.
2. 37 °C'de, %5 CO<sub>2</sub> içeren inkübatörde 5-10 dk bekletildi.
3. Mikroskopta hücrelerin kalktığı görüldüğünde reaksiyonu durdurmak için besiyeri ilave edildi.
4. 1300 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi.
5. Süpernatat kısmı atıldı ve süspansiyondaki hücre sayısı  $2 \times 10^5$  hücre/mL olacak şekilde besiyeri eklendi.

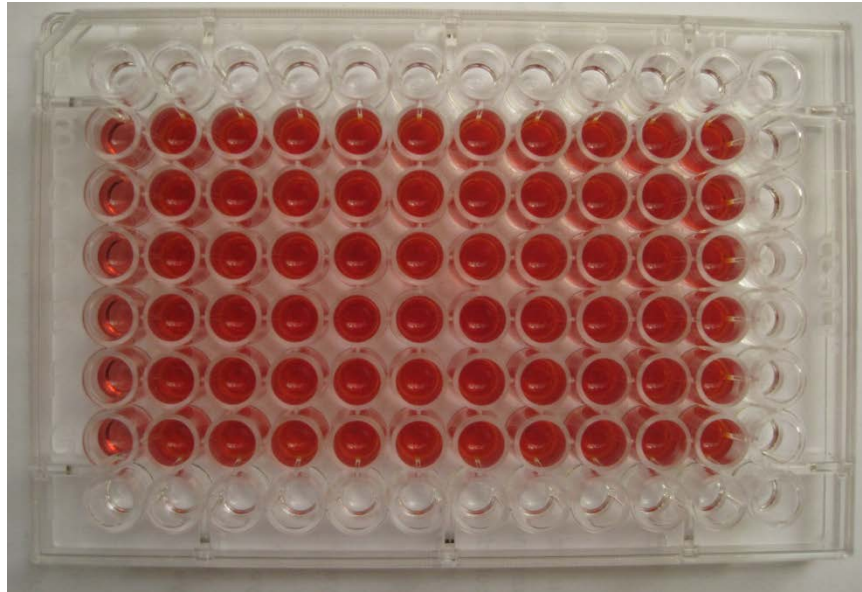
*XTT çalışma yönteminin prosedürü;*

Kullanılan temel ekipmanlar; 96 kuyucuklu mikroyak, mikroyak okuyucu (spektrofotometre), %5 CO<sub>2</sub> inkübatör ve multikanal pipettir.

1. Mikroyak kuyucuklarına 100 µl hücre pipetlendi ve hücrelerin yapışmasını sağlamak için 24 saat 37 °C'de, %5 CO<sub>2</sub> 'li etüvde inkübe edildi.
2. Hücrelerin yapışması sağlandıktan sonra mikroyak kuyucuklarına her ilaç konsantrasyonu için 8 kuyucuk olacak şekilde ilaçları içeren

DMEM'den 100 µl ilave edildi. Tekrar 37 °C'de, %5 CO<sub>2</sub>'li ortamda 24 saat inkübasyona bırakıldı.

3. Kullanımdan hemen önce XTT ayracı ve aktivasyon solüsyonu 37°C'lik su banyosunda çözüldü. Berrak solüsyon oluncaya dek hafifçe karıştırıldı.
4. Reaksiyon solüsyonu oluşturmak için 0,1 ml aktivasyon solüsyonu 5 ml XTT ayracına eklendi.
5. Her kuyucuğa 50 µl reaksiyon solüsyonu eklendi ve inkübatörde 2-3 saat bekletildi.
6. Oluşan turuncu renkli formazol kristallerinin (Şekil V) absorbansı mikropalak okuyucuda (Thermo scientific, multiskan FC) 450 nanometrede referans olarakta 620 nanometrede okundu. Deneyler altı tekrarlı yapıldı.



**Şekil V.** XTT solüsyonu eklendikten sonra turuncu renk almış mikropalak kuyucuklarının görünümü

### **3.4. İstatistiksel Değerlendirme**

Çalışmamızda elde edilen veriler SPSS ( ver: 14.0 ) programına yüklenerek tek yönlü varyans analizi ( ANOVA ) kullanıldı. Verilerimiz bulgular bölümünde tablolarda denek sayısı ve yüzdesi şeklinde birleştirilip yanılma düzeyi 0,05 olarak alınmıştır.

## 4. BULGULAR

### 4.1. İlaçların *T. vaginalis* üzerine etkisi

Heksitidin, klindamisin ve metronidazolün 50, 25, 12.5, 6.2, 3.1, 1.5 ve 0.7 mM konsantrasyonlarının metronidazole hassas ve dirençli *T. vaginalis* suşları üzerine 6., 12., 24., ve 48. saatlerdeki etkisi, ölü-canlı trofozoitleri ayıran Trypan blue boyası ile yapıldı. Her zaman aralığında trofozoitler inverted mikroskopta izlendi ve ölü-canlı trofozoitlerin sayısı belirlenerek kontrole göre yüzdesi hesaplandı.

Heksitidinin hem metronidazole dirençli hemde metronidazole hassas *T.vaginalis* suşlarında 50, 25 ve 12.5 mM konsantrasyonlarında 6. saatten itibaren canlı trofozoitlere rastlanmadı. İki suş kıyaslandığında metronidazole hassas suşta, dirençli suşa kıyasla heksitidinin trofozoitler üzerine etkisinin daha fazla olduğu görüldü ve ikisi arasındaki fark bütün konsantrasyonlarda istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0.05$ ). (Tablo 4, Tablo 5).



**Tablo 4.** Metronidazole hassas *T. vaginalis* suşu üzerine heksitidinin etkisi

Konsantrasyon (mM)	Kontrole göre canlılık yüzdesi (%)							
	6. saat		12. saat		24. saat		48. saat	
	Ortalama	±SD	Ortalama	±SD	Ortalama	±SD	Ortalama	±SD
50	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
25	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
12.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
6.2	13.6	4.3	6,5	3.3	0.0	0.0	0.0	0.0
3.1	22.8	2.2	13.5	4.3	6.5	3.1	0.0	0.0
1.5	42.4	4.7	23.0	1.7	14.1	6.1	6.5	1.4
0.7	59.4	3.3	16.5	3.2	21.4	3.3	12.5	1.1
Kontrol	100		100		100		100	

**Tablo 5.** Metronidazole dirençli *T. vaginalis* suşu üzerine heksitidinin etkisi

Konsantrasyon (mM)	Kontrole göre canlılık yüzdesi (%)							
	6. saat		12. saat		24. saat		48. saat	
	Ortalama	±SD	Ortalama	±SD	Ortalama	±SD	Ortalama	±SD
50	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
25	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
12.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
6.2	16.3	3.5	8.5	2.3	1.6	1.1	0.0	0.0
3.1	24.3	4.1	16.1	2.1	8.4	1.2	0.0	0.0
1.5	46.3	2.7	27.4	4.5	19.6	3.2	11.1	3.7
0.7	63.4	2.3	59.6	4.3	29.4	3.3	19.5	4.8
Kontrol	100		100		100		100	

Klindamisin de heksitidinle benzer bir şekilde 50, 25 ve 12.5 mM konsantrasyonlarında canlı trofozoite rastlanmadı. Klindamisin ve heksitidin moleküllerinin sonuçlarını kıyasladığımızda; her iki suşta da klindamisin molekülünde canlılık yüzdesinin daha yüksek olduğu belirlenmesine rağmen hiçbir konsantrasyonda bu fark anlamlı bulunmadı ( $p>0.05$ ). Metronidazole hassas ve dirençli suşlarda klindamisin etkisini kıyasladığımızda dirençli suşta canlılık yüzdesinin daha fazla olduğu tespit edildi. Bu fark yine bütün konsantrasyonlarda anlamlı bulundu ( $p<0.05$ ) (**Tablo 6, tablo 7**).

**Tablo 6.** Metronidazole hassas *T. vaginalis* suşu üzerine klindamisin etkisi

Konsantrasyon (mM)	Kontrole göre canlılık yüzdesi (%)							
	6. saat		12. saat		24. saat		48. saat	
	Ortalama	±SD	Ortalama	±SD	Ortalama	±SD	Ortalama	±SD
50	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
25	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
12.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
6.2	17.4	3.3	10.0	2.9	4.6	0.0	0.0	0.0
3.1	26.8	2.2	17.5	4.2	11.5	2.1	3.9	1.0
1.5	47.4	3.7	28.0	2.7	16.1	6.1	5.5	1.4
0.7	63.4	3.3	50.4	3.2	25.4	3.2	16.5	3.1
Kontrol	100		100		100		100	

**Tablo 7.** Metronidazole dirençli *T. vaginalis* suşu üzerine klindamisinin etkisi

Konsantrasyon (mM)	Kontrole göre canlılık yüzdesi (%)							
	6. saat		12. saat		24. saat		48. saat	
	Ortalama	±SD	Ortalama	±SD	Ortalama	±SD	Ortalama	±SD
50	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
25	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
12.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
6.2	20.6	2.3	12.5	3.3	7.7	3.0	3.5	1.1
3.1	28.8	4.2	20.5	5.3	12.4	3.1	6.3	2.0
1.5	50.4	5.7	32.4	2.7	23.3	6.1	10.6	2.4
0.7	69.4	7.3	63.5	4.2	33.4	3.3	22.9	3.1
Kontrol	100		100		100		100	

Araştırmamızda kullandığımız üç molekül kıyaslandığında *T. vaginalis* üzerine toksik etkisinin en az olduğu molekülün metronidazol olduğu belirlendi. Metonidazolün 50 ve 25 mM konsantrasyonlarında canlı trofozoit belirlenemezken, diğer iki molekülden farklı olarak 12.5 mM konsantrasyonunda 6. saatte %11.2, 12. saatte %4.6 oranında canlı trofozoit belirlendi. Metronidazole dirençli suşda canlılık oranı, metronidazole hassas suşa göre anlamlı farklı olduğu belirlendi ( $p<0.05$ ) (Tablo 8, tablo 9).

**Tablo 8.** Metronidazole hassas *T. vaginalis* suşu üzerine metronidazolün etkisi

Konsantrasyon (mM)	Kontrole göre canlılık yüzdesi (%)							
	6. saat		12. saat		24. saat		48. saat	
	Ortalama	±SD	Ortalama	±SD	Ortalama	±SD	Ortalama	±SD
50	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
25	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
12.5	11.2	2.3	4.6	1.7	0.0	0.0	0.0	0.0
6.2	23.4	5.3	15.7	1.5	9.6	2.3	5.1	3.3
3.1	32.5	4.4	24.7	2.2	16.8	2.1	10.6	3.2
1.5	52	6.7	33.0	3.7	22.8	1.9	16.6	3.6
0.7	70.7	7.1	57.7	5.5	34.4	3.1	22.7	1.7
Kontrol	100		100		100		100	

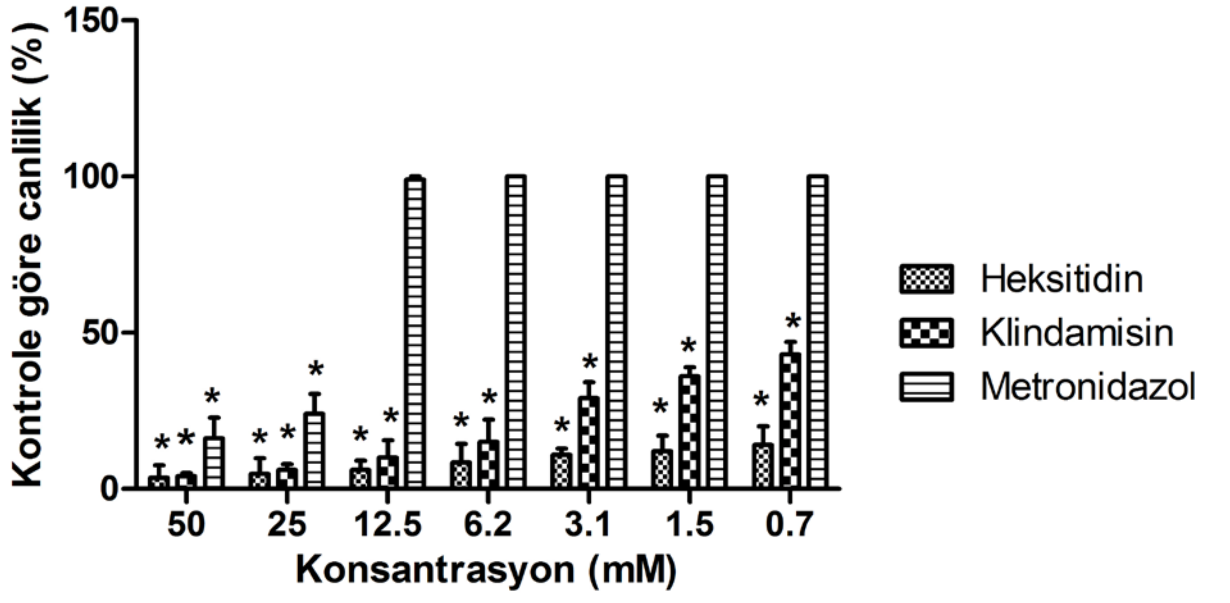
**Tablo 9.** Metronidazole dirençli *T. vaginalis* suşu üzerine metronidazolün etkisi

Konsantrasyon (mM)	Kontrole göre canlılık yüzdesi (%)							
	6. saat		12. saat		24. saat		48. saat	
	Ortalama	±SD	Ortalama	±SD	Ortalama	±SD	Ortalama	±SD
50	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
25	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
12.5	17.8	3.3	10.5	4.1	6.7	2.2	1.7	0.5
6.2	30	3.4	22	4.1	16	2.1	10.7	2.2
3.1	38	6.7	30	2.6	23	5.0	17.7	4.1
1.5	60.0	7.1	41.2	4.2	29.7	4.1	24	1.9
0.7	78	6.7	64.5	3.3	42.6	2.9	30.8	2.5
Kontrol	100		100		100		100	

#### 4.2. İlaçların sitotoksik potansiyellerinin değerlendirilmesi

Heksitidin, klindamisin ve metronidazolün 50, 25, 12.5, 6.2, 3.1, 1.5 ve 0.7 mM konsantrasyonlarının L929 fibroblast hücreleri üzerine *in vitro* sitotoksik etkileri XTT yöntemiyle araştırıldı. Mikroplakların mikropalak okuyucusunda 450 ve 620 nm’de okunması sonucu elde edilen verileri tek yönlü varyans analizi ile istatistiksel olarak değerlendirildi.

Araştırmamızda metronidazolün klindamisin ve heksitidine kıyasla hücreler üzerine toksisitesinin düşük olduğu belirlenmiştir. Bu molekül 12.5, 6.2, 3.1, 1.5 ve 0.7 mM konsantrasyonlarında hücreler üzerine herhangi bir negatif etki göstermezken ( $p>0.05$ ), 50 ve 25 mM konsantrasyonlarında kontrole kıyaslandığında anlamlı farklı olduğu ( $p<0.05$ ) tespit edilmiş ve bu dozlar sitotoksik olarak değerlendirilmiştir (**Şekil VI**). Araştırmamızda kullandığımız ilaçlardan klindamisin ve heksitidin bütünü konsantrasyonları kontrole karşılaştırıldığında anlamlı farklı olduğu ( $p<0.05$ ), dolayısı ile de çalışmamızda kullandığımız bütün dozlarının toksik olduğu tespit edilmiştir. Heksitidin ve klindamisin sitotoksik potansiyel açısından karşılaştırıldığında, bütün konsantrasyonlarda heksitidin klindamisine göre hücreler üzerine negatif etkisinin daha fazla olduğu belirlenmiş fakat bu iki molekül arasında sitotoksosite açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır ( $p>0.05$ ) (**Şekil 6**).



Şekil VI. L929 fibroblast hücreleri üzerine heksitidin, klindamisin ve metronidazolün in vitro sitotoksitesi. \*P<0.05 vs kontrol.

## 5. TARTIŞMA

Araştırmamızda, klinikte Trikomonas enfeksiyonu dışında diğer mikroorganizmaların oluşturduğu vajinit olgularında kullanılan ve vajinal kremlerin etken maddelerinden olan klindamisin ve heksitidinin *T. vaginalis*'e karşı *in vitro* etkisini ve sitotoksik potansiyellerini metronidazole karşılaştırdık. Bunun yanında üzerinde çalıştığımız metronidazole dirençli suşlarda klindamisin ve heksitidinin metronidazole alternatif bir tedavi ajanı olup olamayacağı da araştırma amaçlarımızdandı. Çalışmamızda ilaçların *T. vaginalis* üzerine etkisini vital boya olan trypan blue ile zamana bağımlı olarak değerlendirdik. Deney sonuçlarımızda araştırmamızda kullandığımız üç molekül kıyaslandığında iki suşta da trofozoitler üzerine negatif etkisi en az olan molekülün metronidazol olduğu belirlendi. Aynı zamanda ilaçların sitotoksitesini de araştırdığımız çalışmamızda metronidazolün diğer iki ilaca kıyasla toksisitesinin düşük olduğunu belirledik. Metronidazolün 12.5 mM konsantrasyonundan itibaren hücreler üzerine toksik etkisi görülmezken, diğer iki molekül deneyde kullanılan bütün konsantrasyonlarda hücreler üzerine toksik etki gösterdi. Araştırmamızda, sitotoksiste testi için fibroblast hücrelerini kullandık. Bunun sebebi, fibroblast hücrelerinin vücutta baskın hücreler olması, kültürünün kolay yapılabilmesi ve bölünme sürelerinin 24 saatte bir olmasıdır. Buna ek olarak bu hücreler, birçok standart kurum tarafından da sitotoksiste testleri için önerilmektedir [70].

ABD Hastalık Kontrol ve Korunma Merkezleri (Centers for Disease Control and Prevention, CDC) cinsel yollarla bulaşan hastalıklarla ilgili önerdiği tedavi pratokolleri ile ilgili 2011 yılında bir rapor yayınlamış, buna göre semptomatik hastalığı olan ve gebe olmayan kadınlarda vajinal semptomları hafifletmek için mutlaka tedavi önerilmektedir. Tedavinin HIV ve diğer cinsel yolla bulaşan enfeksiyonların riskini azaltacağı ve düşük

veya histerektomi sonrası enfeksiyon komplikasyonları azaltacağı da belirtilmiştir. Bu raporda trichomoniasis tedavisi için metronidazol ve tinidazol için oral olarak 2 gramlık tek doz ya da alternatif tedavi olarak yine oral olarak günlük 500 mg'lık dozda, 7 gün kullanım tavsiye edilmiştir [71]. Kissinger ve ark. HIV enfeksiyonlu kadınlar arasında *T. vaginalis* tedavisi için 7 gün içinde günde 2 defa 500 mg metronidazole'ün tek 2 g metronidazole alımı kadar etkili olup olmadığını araştırdıkları çalışmada, günde 500 mg olan, 7 günlük ilaç alımının olduğu araştırma grubundaki kadınların %91.5'i tedavi olurken, 2 g tek doz alınan grupta %83.2 oranında tedavide başarı sağlandığı bildirilmiştir [72].

Oduyebo ve arkadaşları; randomize kontrollü olarak yaptıkları çalışmada klindamisin ve metronidazolün bakteriyel vajinit için aynı derecede etkili olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar, klindamisine tedavinin daha uzun bir zaman alabileceğini ve bu tedavi protokolünün genellikle metronidazole alerji ya da intolerans durumunda tercih edilmesi gerektiğini bildirmişlerdir [73]. *In vitro* koşullarda yaptığımız araştırmamızda Oduyebo ve arkadaşlarının yaptığı çalışmadan farklı olarak *T. vaginalis*'e karşı klindamisin, metronidazole kıyasla daha toksik etkiye sahip olduğunu belirledik.

Klindamisin bakterilerin 50 S ribozomal alt birimlere bağlanmak suretiyle protein sentezini inhibe ederek bakteriyostatik etkinlik gösterir. Dar spektrumludur. Esas olarak, gram (+) bakteri türlerinin çoğuna ve gram (-) anaerob patojen bakterilerin bazı türlerine karşı etkilidirler. Klindamisin Bacteroides'lere karşı güçlü etkinlik gösterir ve en tercih edilen antibiyotiktir. Klindamisin bazı parazitik infeksiyonlarda, kombinasyon tedavilerinde başarı sağlamaktadır: 1. toksoplazmozda primetaminle, 2. *P. carinii* pnömonisinde primakinle (kotrimoksazol yerine), 3. *P.falciparum* sıtması ve babesyozda kininle [74].



Klebanoff ve ark. asemptomatik trikomoniyozlu hamile kadınlarda, metronidazol tedavisinin erken doğum riskini azaltıp azaltmadığını araştırdıkları çalışmada, 31157 kadını incelemeye almışlardır. Araştırmacılar 2377 (%7.6) kadının *T. vaginalis* ile enfekte olduğunu belirlemiş ve enfekte kadınların 617'sini araştırmaya almışlardır. Birinci gruptaki kadınlara gebeliğin 24. haftasından 29. haftasına kadar iki kez 2 g'lık dozajlarla metranidazol, ikinci gruba ise placobe uygulamışlardır. Araştırmada metronidazol grubunun %19'unda, placebo grubunun %10.7'sinde gebeliğin 37. haftasından önce doğum gerçekleştiğini belirlemişlerdir. Sonuç olarak, araştırmacılar asemptomatik trikomoniyozlu hamile kadınların tedavisinin, erken doğumu önlemeyeceği vurgulamışlardır [75]. Buna benzer bir çalışmada da Joesoef ve ark. bakteriyel vajinit enfeksiyonu için, intravajinal klindamisin tedavisinin erken doğum ve düşük doğum ağırlığı üzerine etkilerini incelemişler. Bu çalışmada düşük doğum oranı klindamisin alan hastaları için %15.0, placebo alan hastalar için %13.5 oranında olduğu, düşük doğum ağırlığı ise klindamisin alan hastalar için %9.0, placebo alan hastalar için %6.8 oranında bulunmuştur [76]. İki çalışma birbiri ile kıyaslandığında metronidazol grubunda hem düşük doğum oranı hem de düşük doğum ağırlığı yönünden oranların daha yüksek olduğu görülmektedir. Bizim yaptığımız çalışmada heksitidin ve klindamisin *T. vaginalis* üzerine *in vitro* etkisinin metronidazolden daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Heksitidinin ise düşük doğum oranı ve düşük doğum ağırlığı ile ilgili bir araştırmaya rastlanmamıştır. Bu konuda en azından başlangıç için deney hayvanları üzerinde yapılacak *in vivo* çalışmalara ihtiyaç vardır.

Araştırmamızda kullandığımız ilaçların mikroorganizmalar üzerine etki mekanizmaları farklılık göstermektedir. Katyonik bir antiseptik olan heksitidine pozitif yükleri ile hücre membran fonksiyonunu inhibe ederek etki ederken [77], klindamisin

bakterilerin 50 S ribozomal alt birimlere bağlanmak suretiyle protein sentezini inhibe eder [74]. Edwards tarafından 1980 yılında metronidazol ve diğer nitroimidazol ilaçlarının seçici toksisitelerinin mekanizmasını araştırılmış ve nitroimidazol ilaçlarının anaerobik bakteri ve protozoalara karşı seçici toksik etkilerinin birkaç faktöre bağlı olduğunu bulunmuştur. Bu ilaçlardan metronidazolün öldürme etkisinin; hücrede ferrodoksinle bağlantılı tepkimeleri barındıran mekanizmalarca belirlenen ve duyarlı hücreye ilacın giriş hızını etkileyen bir süreç olan nitro grubunun indirgenmesine bağlı olduğu tespit edilmiştir. İndirgenmiş faktör, DNA'nın zarar görmesine yol açar. Bu çalışmada redüksiyon sürecinin incelenmesinde başlıca adımın, elektron transfer proteini ve ilaç arasındaki çift redüksiyon potansiyeline dayandığı gösterilmiştir. Böyle bir tepkimenin redüksiyon potansiyeli yaklaşık 450 mV'dır. Bu düşük potansiyeller, anaeroplara karşı nitroimidazolün seçici toksisitesidir. Araştırmacılar, bu ilaçların etkilerinden birinin muhtemelen DNA inhibisyonu olduğunu vurgulamışlardır [78].

Araştırmalar, metronidazolün uygun tedavi dozları ile hastaların %86-95'inin tedavi edilebildiğini göstermiştir. Başlangıçta tedavideki başarısızlığın nedeni olarak kişinin tekrar enfekte olması veya kişinin partneri sorumlu tutulmuş fakat yapılan *in vitro* çalışmalar *T. vaginalis* izolatlarının %2-9'unun metronidazole dirençli olduğunu göstermiştir ve bildirilen dirençli izolatların oranı da gittikçe artmaktadır [8,10].

Ellis ve arkadaşları mikroaerofil bir protozoon olan *T. vaginalis*'in, oksijene, indirgenen ürünlerine, kendi yaptığı antioksidan savunmalarına karşı duyarlılığını araştırdıkları çalışmalarında amitokondriyal kamçının vajinada önceden bilinenin üzerindeki oksijen basıncına duyarlı olduğunu ve metronidazole dirençli maddelerin (CDC 85 ve IR78) olduğunu ortaya çıkarmışlardır. Araştırmacılar, ayrıca normal miktarın üzerindeki oksijene *T. vaginalis*'in duyarlılığının sebebini radikal temizleyici mekanizmaya ve yeterli miktarda peroksit düşürücü enzimin bulunamayışına bağlamışlardır [79].

Weidinger ve arkadaşlarının, obstetrik ve jinekolojide heksitidin vajinal antiseptik özelliğini ve heksitidin vajinal süpozituar preparatının (10 mg) etkisini araştırdıkları çalışmada, beş günlük uygulamadan sonra heksitidin grubunda vajinada, 5 log CFU/ml bakteriyel reduksiyonu gerçekleştiği ve kontrollerde serviks rahminde reduksiyonu olmayan hemen hemen 3 log CFU/ml bulunduğu belirtilmiştir. Bakteri türlerinin reduksiyonu 224 gebede, ayrıca jinekolojik hastalarda araştırıldı. Doğuma yakın dönemlerde 5 günlük uygulama boyunca günlük 20 mg heksitidin alımı, lactobacilli hariç bütün bakterileri özellikle beta Streptococci sayısını önemli ölçüde azalttığı gösterilmiştir [80].

Sonuç olarak; bakteriyel vajinit ve *T. vaginalis* enfeksiyonunda risk faktörleri benzerdir bu nedenle birlikte görülme ihtimalleri de yüksektir. Bakteriyel ve fungal etkenli vajinit tedavisi için piyasada heksitidin ve klindamisin içeren preparatlar bulunmaktadır. Araştırma sonuçlarımıza göre heksitidin ve klindamisin *T. vaginalis* üzerine oldukça etkilidir. Bu etki trikomonyoz tedavisinde kullanılan metronidazolden yüksektir. Fakat sitotoksik potansiyellerini de karşılaştığımız araştırmamızda, heksitidin ve klindamisin deneylerimizde kullandığımız bütün dozlarının toksik olduğu, metronidazolün ise 12.5 mM ve daha yüksek konsantrasyonlarının toksik olmadığı belirlendi. Sonuçlarımıza göre, sitotoksik potansiyellerini göz önüne aldığımızda, *T. vaginalis* tedavisinde metronidazolün kullanılması en uygun tercih olacaktır kanısındayız. Bunun yanında yaptığımız *in vitro* deneyler sonucunda bakteriyel veya fungal etkenlerin neden olduğu vajinit olgularının tedavisinde kullanılan heksitidin ve klindamisin içeren preparatların, kişinin ek olarak *T. vaginalis* ile enfekte olması durumunda bu enfeksiyanı da tedavi edebileceği düşündürdü. Bu konunun net bir şekilde ortaya konması için *in vivo* deneylere ve klinik araştırmalara ihtiyaç vardır.

## KAYNAKLAR

- [1] Schwebke, J.R. and Burgess, D. (2004). Trichomoniasis, Clin Microbiol Rev., 17:794-803.
- [2] Gerbase, A.C., Rowley, J.T. and Mertens, T.E. (1998). Global epidemiology of sexually transmitted diseases, Lancet, 351:2-4.
- [3] Özcel, M.A. (2007). Tıbbi Parazit Hastalıkları. Türkiye Parazitoloji Derneği, İzmir. 22:431-445.
- [4] Saygı, G. (2002). Temel Tıbbi Parazitoloji. II. Baskı. Es-Form Ofset Ltd Şti. Sivas.
- [5] Saygı, G. (2009). Paraziter Hastalıklar ve Parazitler, I. Baskı. Es-Form Ofset Ltd Şti. Sivas. s:79-86.
- [6] Harp, D.F., Chowdhury, I. (2011). Trichomoniasis: evaluation to execution. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.;157:3-9.
- [7] Forna, F. and Gülmezoglu A.M. (2003). Interventions for treating trichomoniasis in women, Cochrane Database Syst Rev, 2:CD000218.
- [8] Schwebke, J.R. and Barrientes, F.J. (2006). Prevalence of *Trichomonas vaginalis* isolates with resistance to metronidazole and tinidazole, Antimicrob Agents Chemother, 50:4209-10.
- [9] Schmid, G., Narcisi, E., Mosure, D. et al. (2001). Prevalence of metronidazole-resistant *Trichomonas vaginalis* in a gynecology clinic, J Reprod Med, 46: 545–549.
- [10] Huppert, J.S. (2009). Trichomoniasis in teens: an update, Curr Opin Obstet Gynecol, 21:371-8.
- [11] Sood, S., Kapil, A. (2008). An update on *Trichomonas vaginalis*, Indian J Sex Transm Dis, 29: 7–14.

- [12] Coleman, J.S., Gaydos, C.A. and Witter, F. (2013). *Trichomonas vaginalis* vaginitis in obstetrics and gynecology practice: new concepts and controversies, *Obstet Gynecol Surv*, 68:43-50.
- [13] Carlton, J.M., Hirt, R.P., Silva, J.C. et al. (2007). Draft genome sequence of the sexually transmitted pathogen *Trichomonas vaginalis*, *Science*, 315:207-12.
- [14] Honigberg, B.M., King, V.M. (1964). Structure of *Trichomonas vaginalis*, *Donn'e. J Parasitol*, 50:345-64.
- [15] Arroyo, R., Gonzalez-Robles, A., Martinez-Palomo, A., Alderete, J.F. (1993). Signalling of *Trichomonas vaginalis* for amoeboid transformation and adhesion synthesis follows cytoadherence, *Mol Microbiol*, 7: 299-309.
- [16] Pereira-Neves, A., Ribeiro and K.C. (2003). Benchimol M. Pseudocysts in trichomonads--new insights, *Protist*, 154:313-29.
- [17] Jemilohun, P.F. (1998). Isolation and characterization of flagella from *Trichomonas vaginalis*, *Parasitol Res*, 84:800-5.
- [18] Benchimol, M. (2001). Hydrogenosome morphological variation induced by fibronectin and other drugs in *Trichomonas vaginalis* and *Tritrichomonas foetus*. *Parasitol Res*, 87:215-22.
- [19] Lee, K.E., Kim, J.H., Jung, M.K., Ariei, T., Ryu, J.S. and Han, S.S. (2009). Three-dimensional structure of the cytoskeleton in *Trichomonas vaginalis* revealed new features. *J Electron Microsc (Tokyo)*, 58:305-13.
- [20] Petrin, D., Delgaty, K., Bhatt, R. and Garber, G. (1998). Clinical and microbiological aspects of *Trichomonas vaginalis*, *Clin Microbiol Rev*, 11:300-17.
- [21] Ryan, C.M., de Miguel, N. and Johnson, P.J. (2011). *Trichomonas vaginalis*: current understanding of host-parasite interactions, *Essays Biochem*, 51: 161-75.
- [22] Carvajal-Gamez, B.I., Quintas-Granados, L.I., Arroyo, R., Mendoza-

Hernández, G. and Alvarez-Sánchez, M.E. (2012). Translation initiation factor eIF-5A, the hypusine-containing protein, is phosphorylated on serine and tyrosine and O-glycosylated in *Trichomonas vaginalis*, *Microb Pathog*, 52:177-83.

[23] Figueroa-Angulo, E.E., Estrella-Hernández, P., Salgado-Lugo, H., Ochoa-Leyva, A., Gómez Puyou, A., Campos, S.S., Montero-Moran, G., Ortega-López, J., Saab-Rincón, G., Arroyo, R., Benítez-Cardoza, C.G. and Brieba, L.G. (2012). Cellular and biochemical characterization of two closely related triosephosphate isomerases from *Trichomonas vaginalis*, *Parasitology*, 139:1729-38.

[24] Mallo, N., Lamas, J. and Leiro, J.M. (2013). Hydrogenosome metabolism is the key target for antiparasitic activity of resveratrol against *Trichomonas vaginalis*, *Antimicrob Agents Chemother*, 57:2476-84.

[25] Akarsu, G.A., Çelik, T., Güngör, Ç., Altıntaş, K., (2003). Ankara'da çalışan genelev kadınlarında *Trichomonas vaginalis* sıklığı, *T Parazitol Derg*, 27: 252-4.

[26] Ayhan, N., Başbuğ, N. ve Hakbilen, S. (1996). Vajinal akıntılarının mikrobiyolojik değerlendirilmesi, *Türk Hij Den Biyol Derg*, 53:7-11.

[27] Ertabaklar, H., Ertuğ, S., Kafkas, S., Odabaşı, A. ve Karataş, E. (2004). Vajinal Akıntılı Olgularda *Trichomonas vaginalis* Araştırılması, *Türkiye Parazitol Derg*, 28:181-4.

[28] Suay, A., Yayla, M., Mete, Ö. ve Elçi, S. (1995). 300 hayat kadınında direkt mikroskopi ve kültür yöntemleriyle *Trichomonas vaginalis* ve buna bağlı olarak Trikomoniyaz'ın araştırılması, *Türkiye Parazitol Derg*, 19:170-3.

[29] Daldal, N., Karaman, Ü. ve Atambay, M. (2002). Malatya'da konsomatris olarak çalışan kadınlarda *T. vaginalis* insidansı, *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 9: 21-4.

- [30] Keşli, R., Pektaş, B., Ozdemir, M., Günenc, O., Coşkun, E., Baykan, M. and Baysal, B. (2012). Microscopic examination of vaginal discharge specimens for *Trichomonas vaginalis* and other micro-organisms in 18-45 age group women, *Turkiye Parazitolojisi Dergisi*, 36:182-4.
- [31] Saygı, G., Pirgun, N. and Tuna, S. (1980). Vajinal akıntı örneklerinden soyutlanan *Trichomonas vaginalis* ve diğer mikroorganizmalar üzerinde araştırmalar, 3. Özel muayenehane olguları, *T Parazitolojisi Dergisi*, 3:119-23.
- [32] Saygı, G., Yıldırım, A., Yılmaz, M.N. ve Akdemir, Ö. (1980). Vajinal akıntı örneklerinden soyutlanan *Trichomonas vaginalis* ve diğer mikroorganizmalar üzerinde araştırmalar, 1. Hastane Olguları, *T Parazitolojisi Dergisi*, 2: 91-102.
- [33] Yücel, A., Polat, E., Çepni, İ., Öztaş, Ö., Kayım, H., Tırak, Ç. ve Baltalı, N. (1998). Poliklinik hastalarıyla hayat kadınlarından alınan vajina akıntısı örneklerinde *Trichomonas vaginalis*'in mikroskopta ve kültürdeki incelenmesinden çıkan sonuçlar, *T Parazitolojisi Dergisi*, 22:129-132.
- [34] Doğan, N. ve Akgün, N. (1998). Vajinitlerde *T. vaginalis* görülme sıklığı, *T. Parazitolojisi Dergisi*, 22: 11-5.
- [35] Kilimcioğlu, A., Laçın, S., Girginkardeşler, N., Değerli, K. ve Özbilgin, A. (1998). Trichomoniasis tanısında direkt mikroskopi ve kültür yöntemlerinden Diamond, Thiogluconat, TYM, CPLM besiyerlerinin karşılaştırılması, *T Parazitolojisi Dergisi*, 22:239-42.
- [36] Östan, İ., Sözen, U., Limoncu, M.E., Kilimcioğlu, A. ve Özbilgin, A. (2005). Manisa'da Vajinal Akıntılı Kadınlarda *T. vaginalis* Sıklığı, *T Parazitolojisi Dergisi*, 29:7-9.
- [37] Aral, Akarsu, G. (2006). Nonspesifik vaginal akıntı şikayeti olan poliklinik hastalarında *T. vaginalis* araştırılması, *T Parazitolojisi Dergisi*, 30:19-21.

- [38] Çulha, G., Hakverdi, A.U., Zeteroğlu, Ş. ve Duran, N. (2006). Vaginal akıntı ve kaşıntı şikayeti olan kadınlarda *Trichomonas vaginalis* yaygınlığının araştırılması, T Parazitol Derg, 30: 16-8.
- [39] Selvitopu, A., Ozçelik, S. ve Değerli, S. (2006). The incidence of *Trichomonas vaginalis* in vaginal specimens from gynecologic patients, Turkiye Parazitol Derg, 30:175-7.
- [40] Değerli, S., Şalk, S. ve Malatyalı, E. (2011). Incidence in Sivas of *Trichomonas vaginalis* in patients with vaginitis, Turkiye Parazitol Derg, 35:145-7.
- [41] Polat, E., Sirekbasan, S., Yıldırım, Z., Bağdatlı, Y., Çepni, I., Çift, T. ve Baltalı, N.D. (2011). Comparing the occurrence of *Trichomonas vaginalis* infections today to ten years ago among women prostitutes and gynecology and obstetrics patients in Istanbul, Turkiye Parazitol Derg, 35:68-71.
- [42] Moldvin, R.M. (1992). Sexually transmitted protozoal infection, Urol Clin North Am, 19:93-100.
- [43] Kurnatowska, A. ve Mamos, A.R. (2001). Prevalence of *Trichomonas vaginalis* Donné in women of Łódź population in 1955-1999 years, Wiad Parazytol, 1: 9-12.
- [44] Klouman, E., E. J. Massenga, K. I. Klepp, N. E. Sam, W. Nkya, and C. Nlya. (1997). HIV and reproductive tract infections in a total village population in rural Kilimanjaro, Tanzania: women at increased risk. J. Acquir. Immune Defic. Syndr. Hum. Retrovirol, 14: 163–168.
- [45] Laga, M., A. Manoka, M. Kivuvu, B. Malele, M. Tuliza, N. Nzila, J. Goeman, F. Behets, V. Batter, and M. Alary. (1993). Non-ulcerative sexually transmitted diseases as risk factors for HIV-1 transmission in women: results from a cohort study, AIDS, 7:95–102.



- [46] Leroy, V., A. De Clercq, J. Ladner, J. Bogaerts, P. Van de Perre, and F. Dabis. (1995). Should screening of genital infections be part of antenatal care in areas of high HIV prevalence? A prospective cohort study from Kigali, Rwanda, 1992–1993, *Genitourin Med*, 71:207–11.
- [47] Honiberg, B.M. (1978). *Trichomonas* of importance in human medicine. In: Kraiger JP (ed) *Parazitic protozoa*, 2 nd ed. New York, Academic Pres, 275-454.
- [48] Figueroa-Angulo, E.E., Rendón-Gandarilla, F.J., Puente-Rivera, J., Calla-Choque, J.S., Cárdenas-Guerra, R.E., Ortega-López, J., Quintas-Granados, L.I., Alvarez-Sánchez, M.E. and Arroyo, R. (2012). The effects of environmental factors on the virulence of *Trichomonas vaginalis*, *Microbes Infect*, 14:1411-27.
- [49] Çetinkaya,Ü., Yazar,S.,Serin,S.,Hamamcı,B. ve Kuk,S. (2011). Vajinal akıntılı kadınlarda akıntı türüne göre *Trichomonas vaginalis* pozitifliği, *Türkiye Klinikleri J Med Sci*, 31:1094-9.
- [50] Fouts, A.C. and Kraus, S.J. (1980). *Trichomonas vaginalis*: reevaluation of its clinical presentation and laboratory diagnosis, *J Infect Dis*, 141:137-43.
- [51] Krieger, J. N., M. R. Tam, C. E. Stevens, I. O. Nielsen, J. Hale, N. B. Kiviat, and K. K. Holmes. (1988). Diagnosis of trichomoniasis, *JAMA*, 259:1223– 1227.
- [52] Budak, S. ve Daldal, N. (1987). Trikomoniyazın laboratuvar tanısı, Yaşorol Ş (Ed), Trikomoniyaz. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayını No: 7.
- [53] Adiloğlu, A.K. (1999). *Trichomonas Vaginalis* Tanısında Direkt Mikroskopik İnceleme, Giemsa, Akridin Oranj ve İki Kültür Yönteminin Karşılaştırılması, Uzmanlı Tezi, Ankara.
- [54] Hobbs MM, Sena AC. (2013) Modern diagnosis of *Trichomonas vaginalis* infection.*Sex Transm Infect*. 89:434-8.

- [55] Altıntaş, N. (eds). (1997).Parazit Hastalıklarında Tanı, Türkiye Parazitoloji Derneği Yayını, No: 15, 63-96.
- [56] Lawing, L.F., Hedges, S.R. and Schwebke, J.R. (2000). Detection of trichomonosis in vaginal and urine specimens from women by culture and PCR, J Clin Microbiol, 38, 3585-8.
- [57] Tamer, G.S., DüNDAR, D., Çalışkan, Ş. ve Doğer, E. (2008). *Trichomonas vaginalis* saptanmasında direkt mikroskopi ile in vitro kültürün karşılaştırılması. Türk Hij Den Biyol Derg, 65:15-19.
- [58] Daldal, N., Taylan ve Özkan, A.(2011). Parazit Kültürleri, İçinde: Korkmaz M, Ok ZÜ (editörler). Parazitolojide Laboratuvar, Türkiye Parazitoloji Derneği Yayını, No: 23, 87-117.
- [59] Draper, D., Parker, R., Patterson, E., Jones, W., Beutz, M., French, J., Borchardt, K. and McGregor, J. (1993). Detection of *Trichomonas vaginalis* in pregnant women with the InPouch TV culture system, J Clin Microbiol, 31: 1016-8
- [60] Riley, D.E., Roberts, M.C., Takayama, T. and Krieger, J.N. (1992). Development of a polymerase chain reaction-based diagnosis of *Trichomonas vaginalis*, J Clin Microbiol, 30:465-72.
- [61] Krieger, J.N., Verdon, M., Siegel, N. and Holmes, K.K. (1993). Natural history of urogenital trichomoniasis in men, J Urol, 149:1455-8.
- [62] Daly, J.J., Sherman, J.K., Haley, T. and Hostetler, T.L. (1990). Difference in effect of dog seminal fluid and human seminal fluid and semen on *in vitro* survival of *Trichomonas vaginalis*, Sex Transm, 17, 106-109.
- [63] Kovacsovics-Bankowski, M. and Rock, K.L. (1995). A phagosometo-cytosol pathway for exogenous antigens presented on MHC class I molecules, Science, 267: 243-246.

- [64] Gombosova, A., Demes, P. and Valent, M. (1986). Immuno-therapeutic effect of the lactobacillus vaccine, Solco Trichovac, in trichomoniosis is not mediated by antibodies cross reacting with *Trichomonas vaginalis*. *Genitourin Med*, 62:107-110.
- [65] Abraham, M.C., Desjardins, M., Filion, L.G. and Garber, G.E. (1996). Inducible immunity to *Trichomonas vaginalis* in a mouse model of vaginal infection, *Infect Immun*, 64: 3571-5.
- [66] Schwebke JR, Lensing SY, Sobel J. (2013). Intravaginal metronidazole/miconazole for the treatment of vaginal trichomoniasis. *Sex Transm Dis*. 40:710-4.
- [67] Hainer, B.L. and Gibson, M.V. (2011). Vaginitis, *Am Fam Physician*. 83:807-15.
- [68] Cudmore, S.L., Delgaty K.L., Hayward-McClelland, S.F., Petrin, D.P. and Garber, G.E. (2004). Treatment of Infections Caused by Metronidazole-Resistant *Trichomonas vaginalis*, *Clin microbiol Rev*. 17:783-93.
- [69] Kissinger, P., Amedee, A. and Clark, R.A. et al. (2009). *Trichomonas vaginalis* treatment reduces vaginal HIV-1 shedding, *Sex Transm Dis*. 36:11–16.
- [70] ISO document. 10993-5. Biological evaluation of medical devices. Test for cytotoxicity: in vitro methods, 1992.
- [71] Centers for Disease Control and Prevention (2010). Sexually transmitted diseases treatment guidelines. Diseases characterized by vaginal discharge. <http://www.cdc.gov/std/treatment/2010/toc.htm>. Accessed February 28, 2011.
- [72] Kissinger, P., Mena, L. and Martin, D.H. (2010). Randomized treatment trial: single versus 7 day dose of metronidazole for the treatment of *Trichomonas vaginalis* among hiv-infected women, *J Acquir Immune Defic Syndr*. 55:565-571.

- [73] Oduyebo, O.O., Anorlu, R.I. and Ogunsola, F.T. (2009). The effects of antimicrobial therapy on bacterial vaginosis in non-pregnant women, *Cochrane Database Syst Rev*, 3:155-62.
- [74] Özaras,R., Tabak, F. ve Öztürk R. (2002). Akılcı Antibiyotik Kullanımı ve Erişkinde Toplumdan Edinilmiş Enfeksiyonlar Sempozyum Dizisi, 31: 55-82.
- [75] Klebanoff, M.A., Carey, J.C., Hauth, J.C. et al. (2001). Failure of metronidazole to prevent preterm delivery among pregnant women with asymptomatic *Trichomonas vaginalis* infection. *N Engl J Med*. 345:487–93.
- [76] Joesoef, M.R., Hillier, S.L., Wiknjosastro, G. Sumampouw, H., Linnan, M., Norojono, W., Idajadi, A., Utomo, B. (1995). Intravaginal clindamycin treatment for bacterial vaginosis: effects on preterm delivery and low birth weight, *Am J Obstet Gynecol*, 173:1527–31.
- [77] Afennich, F., Slot, D.E., Hossainian, N. and Van der Weijden, G.A. (2011). The effect of hexetidine mouthwash on the prevention of plaque and gingival inflammation: a systematic review, *Int J Dent Hyg*. 9:182-90.
- [78] Edwards, D. I. (1980). Mechanisms of selective toxicity of metronidazole and other nitroimidazole drugs, *Br J Vener Dis*. 56:285–90.
- [79] Ellis, J.E., Yarlett, N., Cole, D., Humphreys, M.J., Lloyd, D. (1994). Antioxidant defences in the microaerophilic protozoan *Trichomonas vaginalis*: comparison of metronidazole-resistant and sensitive strains. *Microbiology*. 140:2489-94.
- [80] Weidinger, H., Passloer, H.J., Kovacs, L., Berle, B. (1991). The advantage of preventive vaginal antisepsis with hexetidine in obstetrics and gynecology, *Geburtshilfe Frauenheilkd*. 51:929-35.

## 7. ÖZGEÇMİŞ

### **Kişisel Bilgiler**

Adı Soyadı	Elif AKYOL
Doğum Yeri ve Tarihi	Sivas, 1987
Medeni Hali	Bekar
Yabancı Dil	İngilizce
E-posta Adresi	<a href="mailto:elifakyol58@hotmail.com">elifakyol58@hotmail.com</a>

### **Eğitim ve Akademik Durumu**

Lise	Cumhuriyet Anadolu Lisesi Sivas, 2005
Lisans	Cumhuriyet Üniversitesi , Eğitim Fakültesi Fen Bilgisi Öğretmenliği A.D. 2009
Y.Lisans	Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Parazitoloji A.D. 2014