

**VAGİNİTİSLİ HASTALARDA DİREKT PREPARASYON
VE KÜLTÜR YÖNTEMLERİ İLE TRICHOMONAS VAGINALIS
ARAŞTIRILMASI**

Mustafa TOKAR

**ANADOLU ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Lisansüstü Öğretim Yönetmeliği Uyarınca
Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı
Parazitoloji Bilim Dalında
YÜKSEK LİSANS TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır.**

Danışman : Yrd. Doç. Dr. Tülâ KOÇOĞLU

KABUL VE ONAY

Mustafa TOKAR'ın Yüksek Lisans Tezi olarak hazırladığı "VAJİNİTİSLİ HASTALARDA DİREKT PREPARASYON VE KÜLTÜR YÖNTEMLERİYLE TRICHOMONAS VAGINALIS ARAŞTIRILMASI" başlıklı bu çalışma jürimizce Lisans Üstü Öğretim Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

10./05 1989

Üye : Prof.Dr. Filiz AKŞİT (imza)

Üye : Doç.Dr. Yüdanur AKŞÜN (imza)

Üye : Yrd.Doç.Dr. Tulay KOÇOĞLU (imza)

Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Yönetim Kurulu'nun .15.05.1989..gün ve 114/251
sayılı kararıyla onaylanmıştır.

(imza)
Prof.Dr.Nurettin BAŞARAN

Enstitü Müdürü
15 MAYIS 1989

ASLI GİBİDİR



Ö Z E T

Bu çalışmada Eskişehir'de SSB Doğumevi, SSK Hastanesi ve Anadolu Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın-Doğum Polikliniklerine vajinal akıntı ve kaşıntı gibi vajinit yakınmalarıyla başvuran 803 kadın ile diğer jinekolojik yakınmalar ve gebelik muayenesi ya da spiral kontrolü nedeniyle başvuran 343 kadın *Trichomonas vaginalis* varlığı yönünden incelemeye alınmıştır. *T.vaginalis* araştırmasında taze preparat, Giemsa boyama ve üç farklı besiyeri kullanarak kültür yöntemleri uygulanmıştır.

803 vajinit semptomlu kadının 16'sında (% 1.9) taze direkt preparatla (Donné'nin taze preparat tekniği) *T.vaginalis* bulunmuştur. Bunların 12'sinde Giemsa boyalı preparatla ve 2'sinde kültür yöntemleriyle organizma saptanmıştır. Kontrol grubundaki 343 kadının 2'sinde yalnız direkt taze preparatla *T.vaginalis* bulunmuş olup diğer iki yöntemle etken saptanamamıştır.

Donné'nin taze preparat yöntemi basit, kolay, ucuz, çabuk ve oldukça duyarlı bir yöntem olmakla birlikte birçok yayında kültürün daha duyarlı olduğu bildirilmektedir. Ancak bizim çalışmamızda kültür yöntemi diğer direkt yöntemlerden daha az duyarlı bulunmuştur ve *Trichomoniasis*'in tanısında kolaylığı, basitliği, ucuzluğu, çabukluğu, oldukça duyarlı ve özgül olması nedeniyle direkt taze preparatın tercih edilmesi ve olanak var ise kültürün de buna eklenmesi kanısına varılmıştır.

Anahtar kelimeler: *Trichomonas vaginalis*, direkt taze preparat, Giemsa boyalı preparat, kültür yöntemleri.

S U M M A R Y

803 women with vaginal discharge, pruritus and 343 women with complaints other than vaginal discharge or pruritus who admitted to Gynecology and Obstetrics Polyclinics of Health Minister Maternity Hospital, Social Insurance Institute Hospital and Anadolu University Faculty of Medicine in Eskisehir were examined to investigate the presence of *Trichomonas vaginalis*. In diagnosis of Trichomoniasis, we performed Donné's wet-mount preparation, Giemsa stain and culture technique using three different media.

T. vaginalis was found in vaginal discharge in 16 of 803 women (1.9 %) with vaginitis symptoms using wet-mount preparation, in 12 of 16 positive cases (1.5 %) with Giemsa stained preparation and 2 of 16 positive cases (1.5 %) with culture techniques. In 2 of asymptomatic 343 women *T. vaginalis* was found with wet-mount test. There was found *T. vaginalis* in none of these women with other two methods.

Although direct wet-mount preparation is a simple, cheap, quick and rather sensitive technique in diagnosis of Trichomoniasis, there have been many reports that culture techniques are more sensitive than other direct methods. But we found that culture techniques are less sensitive than wet-mount test. This result may be related to some reasons such as characteristics of media used, delay in inoculation or amount of specimens. In consideration, in diagnosis of Trichomoniasis, wet-mount preparation should be preferred because of its simplicity, cheapness, quickness, rather sensitivity and specificity and in addition it should be performed culture if possible.

Key words: *Trichomonas vaginalis*, wet-mount preparation, Giemsa stained preparation, culture techniques.

T E Ş E K K Ü R

Bu çalışmanın başlangıcında bana ve çalışmalarına yön veren, yardım ve ilgilerini esirgemeyen değerli hocam Doç.Dr.Hüseyin Sarnıç'ı bu vesileyle şükran ve rahmetle anarım.

Çalışmalarımın bütünlüğe kavuşmasında ve sonuca gidebilmen için her aşamada tüm ilgi ve yardımlarına gördüğüm mütevazî insan değerli hocam Yrd.Doç.Dr.Tülay Koçoğlu'na ve diğer hocalarıma, asistan arkadaşlarıma ve laboratuvar personeline sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım sırasında bana yardımcı olan Anadolu Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Öğretim Üyelerine ve asistanlarına; SSK Hastanesi Başhekimî Op.Dr.Yılmaz Nevruz'a ve tüm laboratuvar personeline; SSB.Doğumevi Başhekimî Op.Dr.Turgut Türe'ye ve ilgili uzman hekimler ile laboratuvar personeline teşekkür ederim.

Ayrıca bu çalışmada emeği geçen yardımlarını esirgemeyen Halk Sağlığı Laboratuvarı Müdürü Seyfettin Türkekul'a ve teknisyen Arif Özkan'a teşekkür ederim.

İ Ç İ N D E K İ L E R

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	i
SUMMARY	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ÇİZELGELER DİZİNİ	v
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Sınıflandırma ve Morfoloji	2
2.2. Bulaşma	2
2.3. Klinik Belirtiler	3
2.4. Tanı	5
2.4.1. Donné'nin direkt mikroskopik inceleme yöntemi	5
2.4.2. Boyalı Yayma Preparatlar	6
2.4.3. Kültür Yöntemleri	7
2.4.4. Tedavi	8
3. GEREÇ VE YÖNTEM	9
3.1. Gereçler	9
3.1.1. Çalışma Grupları	9
3.1.2. Klinik Örnekler	9
3.1.3. Giemsa Boyası	9
3.1.4. Besiyerleri	9
3.1.4.1. Kupferberg Besiyeri	9
3.1.4.2. Trichomonas Medium	10
3.1.4.3. Diamond Besiyeri	11
3.2. Yöntem	11
3.2.1. Direkt Preparatlar	11
3.2.2. Boyalı Preparatlar	12
3.2.3. Ekimlerin Yapılması ve Kültürlerin Değerlendirilmesi	12
4. BULGULAR	13
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	16
KAYNAKLAR DİZİNİ	19
ÖZGEÇMİŞ	22

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
4.1. Taze ve Giemsa boyalı preparat ve kültür yöntem- leriyle T.vaginalis saptanan olguların dağılımı.....	13
4.2. Pozitif olguların yaş gruplarına dağılımı.....	14
4.3. Taze preparatta T.vaginalis saptanan hastalarda yakınmalar	15

1. G İ R İ Ő

Trichomonas vaginalis, insanların ürogenital sisteminde, ekstrasellüler olarak yaşayan, oval veya küresel görünümlü, kamçılı bir protozoondur (22,35,40).

1836'da Donn  tarafından tanımlanmış olan *T.vaginalis* dünyanın her yerinde yaygın olarak infeksiyonlara neden olmaktadır (12,28).

Dünyada her yıl 180 milyon kadının *T.vaginalis*den etkilendiği sanılmaktadır. Enfekte kadınların büyük çoğunluğunda vaginit ve bazılarında servisit ve her iki cinste de üretrit olmaktadır. Bunlardan % 10'u tamamen asemptomatik olup, enfeksiyonun bulaşmasında önemli rol oynamaktadır (12,17).

Trichomoniasis'in doğru tanısı tedavi ve kontrol açısından önemlidir. Tanıda kullanılan klasik direkt yöntemler ancak semptomatik olgularda yararlı olmaktadır (12,22,35,40).

Son yıllarda geliştirilen kültür, direkt immunofloresans, ELISA yöntemleri ise asemptomatik olguları da tanımlamaya yardımcı olan çok daha duyarlı yöntemlerdir (21,23,25,27,32,34).

Biz bu çalışmada *Trichomoniasis*'in tanısında direkt taze preparat ve boyalı preparatların incelenmesinin yanı sıra daha duyarlı olduğu öne sürülen kültür yöntemlerini uyguladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Sınıflandırma ve Morfoloji

Trichomonas vaginalis protozoonların Sarcomastigophora alt bölümünün mastigophora (kamçılılar) üst sınıfında ve Trichomonadidae ailesinin *Trichomonas* cinsinde yer alan bir mikroorganizmadır (39). Taze preparatlarda hareketli ve genellikle armut şeklinde, ortalama 15-25 μm boyunda (bir lökositin 2 misli büyüklüğünde) ve 10X7 μm çapındadır. Büyüklüğü ve şekli kısmen değişse de karakteristik seyirme hareketiyle kolayca tanınır. Tek bir yerden çıkan 4 serbest flajeli vardır. 5. flajel gövdenin yarısına kadar uzanan dalgalanan zara gömülmüştür. Anaerobik olup çeşitli karbonhidratları fermente eder (27).

Hücre yüzeyinin her tarafı fagositoz yapma yeteneğindedir ve bakterilerle eritrositleri fagosite edebilir. Mitokondri varlığı gösterilememiştir. Fakat organizma metabolik enerjiyi hidrojenozom denen tek bir organelle sağlamaktadır. Organizm ikiye bölünme ile çoğalmaktadır ve yalnız vejetatif formda bulunur. Kist formu tanımlanmamıştır (21,34,39).

Besinini lökositler, bakteriler ve vaginanın glikojeni teşkil eder. Bunları fagositoz ve osmozla alır. Spermatozoitleri fagosite edebilir. 40°C den yüksek ısılarda ve donma derecesinin altında çabuk ölür. Suda 40 dakikadan fazla canlı kalamaz. 0°C de birkaç gün canlı kalır. Kuruluğa duyarlıdır. CO₂'li ortamda %5 gliserin içinde dondurulduğunda aylarca, hatta 1-2 sene canlı kalabilmektedir. Sıvı azotta daha uzun süre canlı kalabilir ve virülansını kaybetmez. - 79°C de bir yıldan fazla canlı kalabilir (12).

2.2. Bulaşma

T. vaginalis en çok cinsel ilişki ile bulaşır. Bazı araştırmacılar Trichomoniasis'i cinsel hastalıklar içinde önemine göre syphilis, gonorrhoeae, chancroid ve lympho granüloma inguinale'den sonra 5. zührevi hastalık olarak

değerlendirmektedirler (2, 11, 34, 39).

İndirekt olarak banyo, yüzme havuzları, infekte tuvalet eşyaları ve iç çamaşırlarının bulaşmada önemi çok azdır. Ayrıca anneden çocuğa enfekte doğum kanalından geçiş sırasında % 2-17 oranında bulaşabilmektedir (2, 8, 34, 39).

2.3. Klinik Belirtiler

Vaginitis genellikle T.vaginalis ve Candida suşlarının meydana getirilir. T.vaginalis infeksiyonundaki akıntı genellikle yeşil ve bazende köpüklüdür. Ama bunlar patognomonik özellikler değildir (20, 36).

T.vaginalis ekstrasellüler olarak bulunur. Hafif veya oldukça şiddetli iltihabi reaksiyonlara sebep olur. Yaptığı ekzotoksin ve bir takım parçalayıcı enzimleri ile epitel hücrelerinde harabiyete neden olurlar. Mukozada odaklar halinde ürerler. Yer yer hiperemilere, peteşiyel kanamalara, parazit, lökosit ve eritrositten ibaret infiltrasyon sahalarının oluşumuna neden olurlar. Vagina mukozası hiperemik, bazen ödemli ve candidiyaz vaginitis'inin tersine koyu kırmızı renktedir. Özellikle kadınların % 10-20'inde belli şikayetlere neden olur (8, 21, 27, 34).

Belirtili Trichomoniaziste genellikle pürülan, köpüklü, bol vaginal akıntı, kaşıntı, yanma ve idrar güçlüğü saptanmıştır. Akıntının rengi kirli beyaz, sarımsı, bazen yeşilimsi olabilir. Ayrıca klinik incelemede cervix mukozasının kolaylıkla kanayabilen lekelerle kaplı görünümü, çilek görümlü cervix olarak belirtilmiştir (2, 8, 9, 34, 39).

Kadınlardaki inkübasyon 5-28 gündür (2, 27). Belirtiler sıklıkla menstruel periyotta başlar veya alevlenir. Muhtemelen vajinal koşulların bu dönemde organizmanın hızla çoğalmasına elverişli olması nedeniyledir (27). Venereal hastalık kliniklerinde görülen kadınların % 25'i organizmayı asemptomatik olarak taşır. % 50-75'inde akıntı, % 25-50'sinde vulvovajinal ağrı ve irritasyon vardır (2, 9).

Genellikle orta şiddette dizüri veya sık idrar, enfekte kadınların % 25'inde bulunur ve disparöni sıklıktır. Yalnız % 10 kadarı kötü kokudan yakınır ve bu belirti gerçekte daha çok bir nonspesifik vajiniti düşündürülebilir (27). Abdominal ağrı enfekte kadınların % 5-12'sinde tanımlanmıştır.

T.vaginalis saptanan kadınların % 60 kadarının şikayetinin olmadığı, % 22'sinin orta şiddette, % 18'inin ise şikayetlerinin ve özellikle akıntısının çok olduğu bildirilmiştir. Menstruasyondan sonraki dönemde yakınmalar artar (11).

Bazı araştırmalarda, *T.vaginalis*'in vaginadaki varlığının burada diğer bazı patojen mikroorganizmaların gelişmesini kolaylaştıran bir zemin hazırladığı bildirilmiştir (9,34). *T.vaginalis* vagina epitel glikojenini kullandığından, *Lactobacillus*'lar üreyememekte, dolayısıyla normalde asidik olan vajen pH'sının kaleviye kaymasına neden olmaktadır (34). *M.hominis*(%89), *N.gonorrhoeae*(%29) ve *C.Trichomomatis*(%15) olarak saptanmıştır (16).

Bazı araştırmacılar *T.vaginalis*'in patojen bakterilere vektörlük yaptığını, fallop tüplerinde doku hasarına neden olduğunu, epitel hücrelerine yapışarak toksik ürünler salgılayabileceğini, ayrıca tubal infertilitenin sebebi olduğunu belirtmişlerdir (15).

Yine bir kısım araştırmacı, belirtili infeksiyonların belirli bir ölçüde psikobiyolojik gerilimi olan kişilerde oluştuğunu ileri sürmüşlerdir. Bu gerilimlerin vaginada bulunmayan fiziksel değişikliklere yol açtığını ve sonuçta *Trichomoniasis*'in tipik belirtili klinik tabloyla görüldüğünü belirtmişlerdir (21,34).

Diğer bir grup araştırmacı ise *T.vaginalis*'in neden olduğu bol akıntı ve özellikle geceleri artan dayanılmaz derecedeki kaşıntının psikolojik bozukluklara yol açtığı görüşündedirler (2,34).

Bu nedenle Trichomonal vaginitin bazı psikolojik etkenlerle ilişkisi konusunda araştırmacılar aynı fikirdedirler. Ancak bu ilişkinin sebep-sonuç ilişkisinden hangisi olduğu tartışmalıdır. T.vaginalis'in etken olduğu vaginitle, C.albicans'ın etken olduğu vaginitlerde belirtiler oldukça benzerdir (2,19).

Bu sebeple ayırıcı tanı klinik görünümle yapılmayıp, lab.yöntemleri kullanılmalıdır. T.vaginalis'le oluşan infeksiyonlarda kaynak infeksiyonlu kadın ve erkeklerdir. Parazit özellikle kadınlarda vaginaya yerleşir. Burada herhangi bir belirti göstermeden de uzun süre kalabilir. Vaginadan başka üretra, serviks, bartolin ve skene bezi ve mesaneye; erkeklerde ise sıklıkla idrar yoluna, nadiren de prostat vezikulo-seminalis ile duktus epididimis'e yerleşebilir (2,11,34).

2.4. Tanı

Günümüzde T.vaginalis'in tanısında başlıca 3 yöntem kullanılmaktadır.

2.4.1. Donné'nin direkt mikroskopik inceleme yöntemi (3,7, 21,34).

Bu yöntemde örnek spekulum yardımıyla vaginanın arka forniksinden alınır. Çünkü vaginal akıntı burada toplanmaktadır. Trichomoniasis'li kadınların ancak % 13'ünde organizma endoserviks de bulunduğu için tanıda endoservikal örnek alınması önerilmemektedir (27).

Alınan akıntı örneği lam üzerinde bir damla serum fizyolojik içinde süspanse edildikten sonra, üzerine lamel kapatılarak ışık mikroskopunda 40x objektifi ile incelenir. Bu yöntemde tanı Trichomonasların morfolojik yapılarının ve tipik seyirme hareketlerinin tanınmasına dayanır.

Bu yöntemde başarı vaginal örneğin doğru alınmasına, alan kişinin deneyimlerine, alınan örneğin miktarına ve örnekteki Trichomonasların sayısına bağlıdır (9,12,16).

Hazırlanan preparat zaman kaybedilmeden mikroskopta incelenmelidir. Direkt mikroskopik inceleme geciktiğinde; *T.vaginalis*'ler hareket yeteneklerini yitirerek morfolojik değişikliğe uğrayacaklarından vaginal örnekteki lökositler ve diğer hücrelerden ayırt edilmeleri güçleşir (27). Eğer taze preparatın 3 dakikalık incelenmesi sonunda parazit görülmezse o preparat negatif kabul edilir (9).

Direkt preparasyon diğer yöntemlere göre ucuz, basit, pratik olması, fazla araç, gereç ve uzman personele lüzum duyulmaması nedeniyle üstün olarak kabul edilmiştir (17, 21, 34, 39).

Dizürisi olan hastaların bir kısmının idrar sedimantinde *T.vaginalis* görülebilir (21, 31, 34). Direkt preparatın negatif bulunması *Trichomoniasis*'i ekarte ettirmez (27).

2.4.2. Boyalı Yayma Preparatlar

Daha önce bahsedilen şekilde alınan akıntı örneği bir lam üzerine yayılarak çeşitli boyalarla boyandıktan sonra incelenir. Bunların en çok kullanılanlarından biri Giemsa boyasıdır.

Bunun için yayma havada kuruduktan sonra 3 dakika metanolla tespit edilir. Sonra stok Giemsa boyası 1/10 distile su ile sulandırılarak 30 dakika boyanır (21, 34, 39). Bu preparatta sitoplazma soluk mavi, çekirdek ve blefaroplast kırmızı yada mor renkli boyanır. Flajella'lar, ak-sostil de mor olarak boyanır (21, 34, 39).

Bundan başka Papanicolaou, Leishman, Diff-Quik, Fontana ve Periodic acid Schiff boya ları da kullanılmaktadır. Polyclonal antiserum kullanılarak immunoperoxidase tekniği de direkt preparatların incelenmesinde kullanılmaktadır (16, 18, 19, 33, 37).

Tanıda floresan mikroskopu kullanılarak uygulanan bazı yöntemlerde bulunmaktadır. Bunlardan biri, hazırlanan preparatın acridine orange ile boyanmasıdır. Burada *Trichomonas*lar kırmızı kahverengi ve lökositler de yeşile boyanırlar (3, 16).

Bundan başka monoklonal antikorlar kullanılarak direkt immunofloresans yönteminde kullanılmaktadır (16,31).

2.4.3. Kültür Yöntemleri

Bu amaçla bu güne kadar çok çeşitli besiyerleri tanımlanmıştır ve kültür yöntemlerinin direkt yöntemlerden daha duyarlı olduğu, özellikle az sayıda *Trichomonas* olduğu halde tanıda çok yararlı olduğu bildirilmiştir (9,16,19).

Bu besiyerleri sıvı şeklinde olup, içine genellikle pepton, triptikaz, karaciğer ekstresi, maya ekstresi v.b. gibi bir protein kaynağı, şeker (genellikle maltoz), insan veya hayvan serumları ile flora bakterilerini inhibe etmek için Penisilin, Kloramfenikol ve Streptomisin gibi antibiyotikler konulmaktadır. Bunlara ek olarak, anaerob koşullarda *Trichomonas* daha iyi ürediği için anaerobiosis sağlayan sistein, sodyum tiyoglokolat gibi maddeler de eklenmektedir. Çeşitli çalışmalarda kullanılmış olan bu besiyerleri şunlardır: Diamond, Kupferberg, Trichosel medium, STS medium, Thomas's medium, CPLM medium (Johnson ve Trussel tarafından 1943'de tanımlanmıştır). Martin besiyeri, Oxoid *Trichomonas* medium (CH 161), Oxoid *Trichomonas* medium No:2 (R 27) (12,19,32).

Bazı besiyerlerine agar katılarak solid ve semisolid besiyerleri de elde edilmiştir (7,13,18,26).

Bunların dışında McCoy hücre kültürü *Trichomonas vaginalis*'in üretiminde kullanılmıştır (10).

Bundan başka *Trichomoniasis* tanısında akıntıda anti-jen saptamaya yönelik bir ELISA yöntemi geliştirilmiş ve direkt yöntemlere göre daha duyarlı bulunmuştur (41).

Serolojinin tanıda değeri olmadığı (27) ve serumda ya da akıntıda çeşitli yöntemlerle antikor gösterilmesinin akut enfeksiyon tanısında değerinin sınırlı olup, ancak seroepidemiyolojik çalışmalarda yararlı olabileceği bildirilmiştir (1).

2.4.4. Tedavi

Tedavide en çok metranidazol, buna dirençli olgularda 5-nitro imidazol türevleri kullanılır. Metronidazol günde 2 gramlık tez doz veya 7 gün süreyle günde 3 kez 250 mgr'lık doz olarak verilir. Eşlerin birlikte tedavi olması gerekir. Tedavi sırasında alkol alınmamalıdır. Ayrıca vaginal preparatlar da kullanılır. Menstruel dönemin arasında uygulanmalıdır. Metronidazol gebeliğin ilk üç ayında tehlikelidir (12,21,27,29,34,39).

Diğer trikomoniazid etkili preparatlar ve nitrothiazol (moniflagon) ve pimaricin(pimafucin) de yüksek tesirli ilaçlardır (6,4). Ayrıca nitrimidazin, tinidazol, nifuratel, ornidazol, furazolidon-nifurokzim kombinasyonu, diiyodohidroksikin ve karbarson trikomoniyaz tedavisinde kullanılmaktadır (21,34).

Korunma: *Trichomonas vaginalis* enfeksiyonu saptanan kadın ve erkek geciktirilmeden tedavi edilmelidirler. Kişisel sağlık koruma kurallarına uygun olarak dölerim aygıtı (genital sistem) temizliği yapılır. Halka kişisel korunma kuralları üzerine sağlık bilgisi verilir (21,34,39).

3. G E R E Ç V E Y Ö N T E M L E R

3.1. Gereç

3.1.1. Çalışma Grupları

Bu çalışma kapsamına 1.10.1988 - 3.02.1989 tarihleri arasında Eskişehir S.S.Y.B Doğumevi, S.S.K Hastanesi ve Anadolu Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Kadın Doğum polikliniklerine vajinal akıntı ve kaşıntı v.b. yakınmalarla başvuran 803 hasta ve bu polikliniklere gebelik muayenesi, spiral taktırma veya kontrolü için ya da akıntı dışı diğer jinekolojik yakınmalarla başvuran 343 kadın kontrol grubu olarak alınmıştır. Hasta grubunun yaşları 18-55 arasında, kontrol grubunun yaşları da 20-47 arasında değişmektedir.

3.1.2. Klinik Örnekler

Vajinal akıntı örnekleri spekulum yardımıyla posterior fornixten steril eküvyon ya da spatül ile alınarak steril bir petri kutusuna konulmuştur.

3.1.3. Giemsa Boyası

Merck'in stok sıvı Giemsa boyası kullanılmıştır.

3.1.4. Besiyerleri

Bu çalışmada 3 değişik besiyeri kullanılmıştır:

3.1.4.1 Kupferberg Besiyeri

Bacto Tryptose	20 g
Bacto Maltose	1 g
Cysteine Hydrochloride	1,5 g
Bacto Agar	1 g
Bacto Methylene Blue	0,003 g
Distile su	950 ml

Bu maddeler tartıldıktan sonra 950 ml distile su ile karıştırılıp tam olarak erimesi için kaynatılmış ve otoklavda 121°C de 10 dakika steril edilmiştir. Sonra 50-55 °C ye soğutulan bu besiyerine 50 ml inaktive (56°C de su banyosunda yarım saat tutularak) edilmiş sığır serumu eklenmiştir. Daha sonra 1 ml'sinde 250 ünite penisilin, 1 mg streptomisin, 1 mg kloramfenikol olacak şekilde antibiyotik karışımı eklenmiştir ve balon içerisinde iyice karıştırıldıktan sonra aseptik koşullarda steril tüplere 10'ar ml dağıtılmıştır (5).

3.1.4.2. Trichomonas Medium Besiyeri

Liver Digest ^x	18 g
Dextrose	20 g
Chloramphenicol	0,125 g
Tryptone Soya Broth(Oxoid CM 129) ^{xx}	30 g
Calcium Pantothenate % 0,5'likten	1 ml
Distile su	1 lt

Kloramfenikol ve kalsiyum pantotenat hariç diğerleri distile suda çözüldükten sonra otoklavda 121°C de 10 dakika steril edilir ve 50°C ye soğuyunca kloramfenikol, kalsiyum pantotenat ile 250 ml inaktive edilmiş at serumu ilave edilir. Aseptik koşullarda steril tüplere 4,5'ar ml dağıtılır (7).

^xÇalışmada, belirtilen madde yerine Bacto Liver kullanılmıştır.

^{xx}Çalışmada, belirtilen madde yerine Tryptic Soy Broth kullanılmıştır.

3.2.2. Boyalı Preparatlar

Yalnızca Giemsa boyası kullanılmıştır. Standart yöntemler uygulanarak akıntı örneği lam üzerine yayılıp havada kurutulduktan sonra metanolle 3 dakika tespit edilmiş ve 1/10 oranında distile su ile sulandırılan Giemsa boyası ile 30 dakika boyanmıştır (21,34,39).

Bu preparatlarda Giemsa ile sitoplazması soluk mavi, çekirdeği ve blefaroplastı kırmızı yada mor, flajelle akzostili mor olarak boyanan tipik *T.vajinalis* aranmıştır.

3.2.3. Ekinlerin Yapılması ve Kültürlerin Değerlendirilmesi

Gereç bölümünde belirtilen besiyerlerine steril eküvyonla alınan akıntı örnekleri bolca ekilmiştir. Sonra 37°C lik etüve kaldırılmıştır. 2. ve 7. günlerde besiyerlerinden pipetle alınan bir damla örnek lam-lamel arasında 40x objektifle *T.vajinalis* varlığı yönünden incelenmiştir. (5,7,32).

4. B U L G U L A R

Eskişehir S.S.Y.B. Doğumevi, S.S.K. Hastanesi ve A.Ü. Tıp Fakültesi Kadın-Doğum Polikliniklerine akıntı, kaşıntı veya her iki yakınmayla başvuran 803 hastanın 16'sında direkt preparatta T.vaginalis görülmüştür. Bu polikliniklere vaginal şikayetler dışında başvuran 343 kişilik kontrol grubunda direkt preparatta 2 kişide T.vaginalis'e rastlanmıştır. Bunlardan biri gebelik muayenesine gelen bir kişide ve spiral kontroluna gelen asemptomatik bir kadında saptanmıştır. Direkt preparatta T.vaginalis saptanan 16 kadar vakanın Giemsa boyalı preparatında 12 pozitif olgu görülmüştür. Kontrol grubunun Giemsa boyalı preparatında Trichomonasa rastlanmamıştır.

Direkt preparatı pozitif olan 18 olgunun (16 hasta + 2 kontrol) sadece 2'sinde Diamond besiyerinde üreme olmuştur. Diğer besiyerlerinde üreme olmamıştır. Bu bulgular Çizelge 4.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1. Taze ve Giemsa boyalı preparat ve kültür yöntemleriyle T.vaginalis saptanan olguların dağılımı.

Çalışma Grupları	Pozitif Olgular			Toplam ^x	% ^{xx}
	Taze Preparat	Boyalı Preparat	Kültür		
Hasta grubu	16/803	12/803	2/803	16/803	% 1.9
Kontrol grubu	2/343	0/343	0/343	2/343	% 0.5
Toplam	18/1146	12/1146	2/1146	18/1146	% 1.5

^xTüm yöntemlerle pozitif bulunan olgular toplamı

^{xx}Tüm yöntemlerle pozitif bulunan olgular yüzdesi

Tüm yöntemlerin istatistiksel analizi χ^2 (Ki Kare) testine göre yapılmış olup, kültür yönteminin diğer iki yönteme göre önemli düzeyde düşük duyarlılıkta olduğu bulunmuştur ($P < 0.01$). Direkt yöntem ile Giemsa boyalı preparasyon yöntemi arasında önemli fark bulunmamıştır ($P > 0.05$). Her üç yöntem içinde *T.vaginalis* tanısı için direkt yöntemin diğer yöntemlere göre yüksek duyarlılığa sahip olduğu görülmüştür (25).

Pozitif olguların yaşları 21-47 arasındadır. Yaş ortalaması 35'dir. Kontrol grubundaki 2 olgunun yaşları 21 ve 40'dır (Çizelge 4.2.).

Çizelge 4.2. Pozitif olguların yaş gruplarına dağılımı.^x

Toplam Pozitif Olgu	Yaş Grupları		
	<20	21-47	48 >
Hasta grubu	-	16	-
Kontrol grubu	-	2	-
Toplam	-	18	-

^xHer üç yöntem ile pozitif bulunan olgular.

T.vaginalis saptanan 16 olgunun 8'inde akıntı, 2'sinde kaşıntı, 1'inde akıntı+kaşıntı, 3'ünde dizüri, 2'sinde pelvik ağrı yakınmaları vardı.

Taze preparatta *T.vaginalis* saptanan olguların yakınmaları Çizelge 4.3'de gösterilmiştir.

Yakınmalar	Hasta Grubu	
	Sayı	%
Akıntı	8	% 50
Kaşıntı	2	%12.5
Akıntı+kaşıntı	1	% 6.25
Dizüri	3	%18.75
Pelvik ağrı	2	%12.5
Toplam	16	% 100

Çizelge 4.3. Taze preparatta T.vaginalis saptanan olguların yakınmaları.

5. T A R T I Ő M A

T.vaginalise dünyanın her yerinde sık raslanır ve dünyada ^{her yit} yaklaşık olarak 180 milyon kadını etkilediği tahmin edilmektedir. Bunların çoğunda vaginit, bazen kadınlarda cervisit ve her iki cinste de üretrite neden olmaktadır (12,16).

Enfeksiyon en çok 20-40 yaş arasındaki kadınlarda görülmektedir. Genç kızlar ve menopozdan sonra insidens düşüktür. Çocuklarda çok seyrekler. Prevalansın sağlam kadınlarda % 10'dan fazla olduğu saptanmıştır (11).

Bu asemptomatik enfekte kişilerin daha sonra hastalığın aktive olması ve hastalığı bulaştırma yönünden önemli bir risk taşıdığı bildirilmektedir (11,16).

Trichomoniasisin spesifik tedavisi ve kontrolü için doğru tanı gereklidir. Günümüzde tanıda çok çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Hali hazırda en duyarlı yöntemin kültür olduğu öne sürülmekte ve buna alternatif direkt yöntemler araştırılmaktadır. Bu alternatif yöntemler monoklonal antikolarla direkt immunofloresan ve ELISA yöntemleridir (16,41).

Biz bu çalışmada literatürün ışığında klasik direkt yöntemlerin yanısıra daha duyarlı olduğu belirtilen kültür yöntemlerini kullanarak tanı oranım artırıp artıramayacağımızı araştırdık.

Bu çalışmada vajinit yakınmaları olan 803 kadının 16' sında direkt taze preparat ile, bunların 12'sinde Giemsa boyalı preparatta ve 2'sinde kültürde T.vaginalis saptanmıştır. Kültür pozitif olguların 2 tanesinde üreme, Diamond besiyerinde olmuştur. Diğer besiyerlerinde üreme olmamıştır. Vajinit yakınması olmayan kontrol grubundaki 343 kadından yalnızca 1 gebede ve spiral kontroluna gelen 1 kadında direkt taze preparatta T.vaginalis görülmüştür. Bunların hiçbirinde diğer yöntemlerle organizma saptanmamıştır.

Türkiye'de daha önce yapılan bir çalışmada bizim de kullandığımız direkt preparat ve Giemsa boyama yöntemiyle akıntılı ve akıntısız hastalarda sırasıyla % 2.25 ve % 1.32 pozitif olgu saptanmıştır (23).

Saygı ve arkadaşlarınınca yapılan bir araştırmada kültürü yapılan 46 örneğin 3'ünde yani % 6.5 oranında *T.vaginalis* bulunmuştur. Bunların hiç birinde direkt yöntemle organizma saptanamamıştır (30).

Yılmaztürk'ün Mannheim Üniversitesinde 127 kadın üzerinde yaptığı bir araştırmada direkt taze preparatla olguların % 16,5'unda *Trichomonas* bulunmuştur. Hiç yakınması olmayan kadınlarda ise % 23.2 oranında *Trichomonas* saptanmıştır (40).

Clarck ve Solomons, 1953 yılında A.B.D.'de 2653 kadında yaptıkları araştırmada direkt mikroskopik inceleme yöntemi ile 150 hastada (%7) kültür yöntemi ile 312 hastada (%12) *T.vaginalis* saptamışlardır (4).

McLennan ve Smith, 1972'de 1000 vaginitli kadında boyalı, direkt preparat ve kültür yöntemi ile *T.vaginalis* araştırmışlardır. Kültür yöntemi ile % 94 pozitif olgu saptamışlar, bunların % 82'sinde taze preparat ile % 78'inde Papanicolaou boyama ile organizmayı göstermişlerdir.

Fouts ve Kraus 1980 yılında A.B.D.'de 400 hasta üzerinde direkt mikroskopik inceleme ve kültür yöntemleriyle yaptıkları *T.vaginalis* araştırmasında kültür yöntemi ile 131 hastada (%32) *T.vaginalis* bulmuşlar ve bunların 66'sında (%16) direkt mikroskopi ile organizmayı gösterebilmişlerdir (9).

Yine aynı araştırmacılar cinsel temasla bulaşan hastalıklar kliniğinde 2000'den fazla kadında yaptıkları araştırmada asemptomatik kadınlarda %64, klinik vajinitlilerde %75 ve karakteristik belirtisi olanlarda %80 oranında *T.vaginalis* bulmuşlardır. Mikroskopistin tecrübesine göre taze preparatın duyarlılığı %65'den %92'ye kadar değişmektedir (17).

Esasen yapılan benzer çalışmaların hemen hepsinde kültür yöntemleri direkt mikroskopik inceleme yöntemlerine (taze ve boyalı preparatlar) göre daha duyarlı bulunmuştur (9,14,16,24,28). Ancak bulabildiğimiz tek çalışmada Thomson ve arkadaşları, 2 farklı besiyeri (Kupferberg ve Hirsch diphasic besiyeri) kullanarak kültür ve direkt taze preparat yöntemini karşılaştırmışlar ve eş duyarlılıkta bulmuşlardır. Papanicolaou boyama yöntemini ise daha az duyarlı bulmuşlardır (33).

Bizim çalışmamızda kültür yöntemleri direkt yöntemlerden daha az duyarlı bulunmuştur. Bunun nedenleri: 1) Çalışmalarımızın bir bölümünde hastalardan yalnız eküvyonla örnek aldığımız için örnek miktarının az olması dolayısıyla az sayıda organizmanın ekilmiş olması, 2) Örneklerin çoğunluğunun hasta başında ekilememiş olması ve soğuğa duyarlı olan Trichomonasın laboratuvara ulaşana kadar canlılığını kaybetmiş olması olabilir.

Sonuç olarak her ne kadar birçok yayında kültür yönteminin üstün ve direkt yöntemlerden daha duyarlı olduğu (özellikle asemptomatik olgularda) bildirilmiş olsa da, direkt taze preparatın daha basit, kolay, ucuz ve hızlı olması nedeniyle biz Trichomoniasis tanısında öncelikle bu yöntemin uygulanmasını ve olanaklar elverdiğinde kültür yöntemlerine de başvurulmasını önermekteyiz.

K A Y N A K L A R D İ Z İ N İ

1. Bebb, D. et all: Enzyme-linked Immuno sorbent Assay for the Diagnosis of Trichomoniasis in Women, Sexually Transmitted Diseases Vol:14, No:4, P:216-220, 1987
2. Bilgehan, H.: Cinsel İlişki İle Bulaşan Hastalıklar, XX.Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Bilgehan Matbaası, İzmir, 1982
3. Cheesbroogh, M.: Medical Laboratory Manual For Tropical Countries Vol:2, Microbiology, Butter worth and Co (Publishers) Ltd. Borough Green, Sevenoaks, Kent TN 15 8 PH P:131, 1984
4. Clark, D.H. et all: An Evaluation of Routine Culture Examinations For Trichomonas Vaginalis and Candida Am. J.Obst. and Gynec. Vol:78, No:6, 1959
5. Difco Manual Tenth Edition, 1984, Difco Laboratories, Detroit Michigan 48232 USA P:489-90
6. Esendal, A.Ş. ve arkadaşları: Trichomonas vaginalis tedavisinde yeni görüşler. A.Ü.Tıp Fak.Mec., 17:235-247, 1963
7. Feinberg, J.G., Whittington, M.J.: Aculture medium for Trichomonas Vaginalis Donné and species of Candida J.Clin. Pathol. 10:327-329, 1957.
8. Fonte, C.E. et all: Vaginal Discharge in a Two-Month-Old Infant. Hospital Practice 30:338-40, 1987
9. Fouts, A.C., Kraus, S.J.: Trichomonas Vaginalis: Reevaluation of its Clinical Presentation and Laboratory Diagnosis J.Inf.Dis. 141:137-143, 1980
10. Garber, E.G. et all: Cell Culture Compared with Broth f for Detection of Trichomonas Vaginalis, J.Clin. Microbiol. Vol:25, Num:7, P:1275-79, 1987
11. Gürler, N.: Trichomonas Vaginalis: Cinsel Temasla Yayılan Hastalıklar ve AIDS s.106-9, 1988
12. Hess, J.: Review of current Methods for the detection of Trichomonas in Clinical Material. J.Clin.Path. 22: 269-272, 1969
13. Ivey, M.H.: Growth Characteristics of Clones of Trichomonas Vaginalis In Solid Medium. The Journal Of Parasitology P:539-544, 1960
14. Kean, B.H., Day, E.: Trichomonas vaginalis infection. An evaluation of three diagnostic techniques with data on incidence. Am.J.Obst. Gynec. 68:(6), 1510-18, 1954
15. Keith, G.L. et all: The Possible Role of Trichomonas Vaginalis As a "Vector" for the Spread of Other Pathogens. Int.J.Fertil, Vol:31, No:4 P:272-77, 1986

16. Krieger, J.N. et all: Diagnosis of Trichomoniasis, Comparison of Conventional Wet-Mount Examination with Cytologic Studies, Cultures and Monoclonal Antibody Staining of Direct Specimens, JAMA, Vol:259, No:8, P:1223-27, 1988
17. Lossick, J.G.: The Diagnosis of Vaginal Trichomoniasis JAMA, Vol:259, No:8, P:1230, 1988
18. Lowe, G.H.: A comparison of current laboratory methods and a new-semi-solid culture medium for the detection of Trichomonas vaginalis, J.Clin.Path.18:432-34, 1965
19. McLennan, M.T. et all: Diagnosis of vaginal mycosis and Trichomoniasis. Obst. Gynec. 40:231-34, 1972
20. Mc Millan A.: Vaginal Discharge, British Medical Journal Vol:293, Num:6558, P:1357-1360, 1986
21. Merdivenci, A.: Trikomoniasis, Medikal Protozooloji İ.Ü.Cerrahpaşa Tıp Fak.Yay. No:80, 1981
22. Nielsen, M.H.: The Fine Structure of Cells of Trichomonas Vaginalis Donné obtained from the exponential phase of growth and from stationary cultures. Acta. Path. Microbiol. Scand. 84:205-16, 1976
23. Özcan, K. ve arkadaşları: Genel Kadınlarda Trichomonas Vaginalis Araştırması. Türkiye Parazitoloji Dergisi Cilt:1-2, S:75-9, 1988
24. Özçelik, S.: Trichomonas Vaginalis'in Üretimi Üzerine İst.Tıp Fak.Mec. 28: 52-9, 1965
25. Özdamar, K.: Bioistatistik, Bilim Teknik Yayınevi İst, 1984
26. Philip, A. et all: An Agar Culture Technigue to Quantitate Trichomonas Vaginalis From Women. The Journal of Infectious Diseases Vol: 155, No:2, P:304-8, 1987
27. Rein, M.F.: Trichomonas Vaginalis Principles and Practice of Infectious Diseases P:1556-8, 1984
28. Richard, D.M., Roymond, H.K.: Trichomonas Vaginalis Vaginitis, Am.J.Obst.Gynec.87:(8) 1024-7, 1963.
29. Robinson, S.C.: Trichomonas Vaginitis Rezistant to Metronidazole. Canad .Med.Ass.J.86.665, 1962
30. Saygı, G. ve arkadaşları: Sivas Genelev Kadınlarında Trichomonas Vaginalis ve Bağırsak Parazitlerinin Araştırılması. C.Ü.Tıp Fak.Dergisi, 7:(3-4), 157-160, 1985
31. Smith, R.F.: Detection of T.vaginalis in vaginal Specimens by Direct Immunofluorescence Assay J.Clin.Microbiol. 24:(6):1107-8, 1986

32. Sonnenwirth,, A.C., Jarett, L.: Grad wehl's Clinical Laboratory Methods and Diagnosis, Laboratory Procedures in Parasitology, Ivey, Micheal in, Vol:2, P:2181, 1980
33. Thomason, J.L. et all.: Comparison of Four Methods to Detect Trichomonas Vaginalis, J.Clin.Microbiol 26:(9) 1869-70, 1988
34. Unat, E.K.: Tıp Parazitolojisi, S.571-7, Fatih Gençlik Vakfı Matbaası, İstanbul, 1985.
35. Warren, R.L.: The Bacteriologic Diagnosis of Trichomonal Candidal and Combined Infection. Obst. Gynec 20(6), 788, 1962
36. WHO; The Manogement of Sexually Transmitted Diseases: Trichomoniasis, Regional office for Europe P:24-5 Copenhagen, 1979
37. Wollinska, W: The Value of a prepared culture medium in diagnosis of T.vaginalis. Am.J.Omst.Gynec.77:305-9, 1959
38. Vural, S. ve arkadaşları: Trichomonas Vaginalis Suşlarında Metronidazol'e Direnç. İst.Tıp Fak.Mec. 27:6 -74, 1964
39. Yaşarol, Ş.: Medikal Parazitoloji. Ege Üniv.Tıp Fak. Yay., 93:83-6, 1984
40. Yılmaztürk, M.: Kadında Trichomonas İnfeksiyonu. A.Ü. Tıp Fak.Mec. 26(1): 78-84, 1971
41. Yule, A. et all: Detection of T.vaginalis antigen in women by enzyme immunoassay, J.Clin.Path.40:566-8, 1987

