

Trichomoniasis Tanısında Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile Mikroskopi ve Kültür Yöntemlerinin Karşılaştırılması

Comparison of Polymerase Chain Reaction with Wet Mount and Culture Methods for the Diagnosis of Trichomoniasis

Hatice Ertabaklar¹, Ayşe Caner², Mert Döşkaya², Leylant Ova Demirtaş³, Seray Özensoy Töz², Sema Ertuğ¹, Yüksel Gürüz²

¹Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Aydın, Türkiye

²Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

³Doğum ve Çocuk Hastalıkları Hastanesi, Kadın-Doğum Kliniği, Aydın, Türkiye

ÖZET

Amaç: Trichomoniasis tanısında sıklıkla direkt mikroskopi (DM), kültür, boyama yöntemleri kullanılmaktadır. Son yıllarda değişik primerlerin kullanıldığı polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yöntemleri denenmekte ve henüz araştırma amaçlı olarak kullanılmaktadır.

Yöntemler: Bu çalışmada Aydın Doğum ve Çocuk Hastanesi Kadın Doğum polikliniğine başvuran 102 olgudan jinekolojik muayene esnasında alınan vajinal örneklerde DM, kültür ve Tv-E650 gen bölgesine özgü primerlerin kullanıldığı PZR yöntemleri ile *T. vaginalis* araştırılmıştır. Ayrıca daha önce vajinit tanısı alan olgulardan izole edilen 20 adet *T. vaginalis* kültüründen hazırlanan örneklerle PZR yöntemi uygulanmıştır.

Bulgular: Elde edilen sonuçlara göre 102 örnekte DM ile %2.94, TYM besiyeri ile %4.90 ve PZR yöntemi ile %4.90 oranında *T. vaginalis* saptanmıştır. Bu üç yöntemden bir veya daha fazlası ile olguların %5.88'inde pozitiflik saptanmıştır. Daha önce elde edilen 20 adet suş PZR ile pozitif olarak saptanmıştır.

Sonuç: Altın standart kabul edilen kültür yöntemine göre DM'nin duyarlılığı %60, özgüllüğü ise %100 olarak hesaplanmıştır. PZR'nun duyarlılığı ve özgüllüğü sırasıyla %80 ve %97.95 olarak hesaplanmıştır. Bu çalışmada, ülkemizde trichomoniasis tanısında PZR yöntemi ilk kez denenmiş olup yöntemin rutin tanıda kullanılabilir olacağı sonucuna ulaşılmıştır. (*Turkiye Parazitol Derg 2011; 35: 1-5*)

Anahtar Sözcükler: Trichomoniasis PZR, kültür, tanı, direkt mikroskopi

Geliş Tarihi: 12.02.2010

Kabul Tarihi: 04.12.2010

ABSTRACT

Objective: Wet mount, culture and staining methods are generally used in the diagnosis of trichomoniasis. Polymerase chain reaction (PCR) methods with different primer pairs have been tested and used for research in recent years.

Methods: In this study, *T. vaginalis* was tested for in the vaginal samples of 102 patients referred to obstetrics and gynecology polyclinic of Aydın Obstetrics and Children Hospital for various reasons, with direct microscopy, culture and PCR with primers targeting Tv-E650. In addition, PCR was applied to 20 *T. vaginalis* strains that were isolated from patients who were previously diagnosed with vaginitis.

Results: Of 102 samples, *T. vaginalis* was found to be positive in 2.94, 4.90 and 4.90% with wet mount, TYM medium and PCR respectively. The positivity rate reached 5.88% using the 3 methods together. All 20 strains isolated from patients with vaginitis were reported as positive by the PCR method.

Conclusion: The wet mount had 60% sensitivity and 100% specificity, while PCR showed 80% sensitivity and 97.95% specificity when compared with the culture method, which is accepted as the "gold standard". The PCR method was performed for the first time as a diagnostic assay for trichomoniasis in this study and it is concluded that it can be used routinely for its diagnosis. (*Turkiye Parazitol Derg 2011; 35: 1-5*)

(*Turkiye Parazitol Derg 2011; 35: 1-5*)

Key Words: Trichomoniasis, PCR, culture, diagnosis, wet mount

Received: 12.02.2010

Accepted: 04.12.2010

Yazışma Adresi/Address for Correspondence: Dr. Hatice Ertabaklar, Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Aydın, Türkiye Gsm: +90 542 512 00 99 E-posta: hatice@adu.edu.tr

doi:10.5152/tpd.2011.01

GİRİŞ

Trichomoniasis *Trichomonas vaginalis*'in etken olduğu, cinsel yolla bulaşan bir protozoon enfeksiyonudur. Dünya sağlık örgütünün verilerine göre yılda 176 milyon kişinin bu parazit ile enfekte olduğu tahmin edilmektedir (1). Enfeksiyonun sıklıkla vajinit, üretrit ve prostat enfeksiyonuna yol açtığı ayrıca pelvik inflamatuvar hastalık, tubal infertilite, erken doğum ve servikal kanser oluşumunda predispozan etkisi olduğu bildirilmiştir (2-4). Son yıllarda yapılan çalışmalarda ise *T. vaginalis*'in özellikle HIV (Human Immunodeficiency Virus) Tip I'in geçişini arttırdığı ileri sürülmektedir (5, 6).

Trichomoniasis tanısında yaygın olarak kolay, ucuz ve hızlı bir yöntem olan direkt mikroskopi (DM) tercih edilmekle birlikte yöntemin duyarlılığının düşük olduğu bilinmektedir. Altın standart olarak kabul edilen kültür yöntemlerinin duyarlılığı yüksek olmakla birlikte ancak belirli merkezlerde uygulanabilmekte, deneyimli eleman gerekmede ve sonuç için 2-7 gün zamana ihtiyaç duyulmaktadır. Ayrıca hücre kültürü, PAP smear, değişik boyalar da tanı amaçlı olarak kullanılmaktadır (7, 8).

Son yıllarda pek çok bilim dalında olduğu gibi parazitoloji alanında da moleküler yöntemlerin kullanımında artış görülmektedir. Trichomoniasis tanısında ilk kez Riley ve ark. 1992 yılında "A6p" olarak adlandırılan ve 102 bp büyüklüğünde genomik bir bölgenin amplifikasyonunun yapıldığı PZR yöntemi geliştirmişlerdir (9). Daha sonraki yıllarda değişik bölgelerden seçilen primerler ile PZR çalışmaları yapılmıştır. Trichomoniasis tanısında PZR halen gelişme aşamasında olup daha çok araştırma amaçlı kullanılmakta, henüz rutin bir tanı yöntemi olarak kullanılmamaktadır. Beta (β) tubulin geni, ribozomal RNA geninin 18S subuniti gibi değişik gen bölgelerinden hazırlanan primerler ile yapılan çalışmalarda yöntemin duyarlılığının %84 ile %100 arasında saptandığı bildirilmektedir. Bununla birlikte bu konuda yapılan çalışmaların her geçen gün artarak devam etmekte ve ileride PZR'nun en sık kullanılacak yöntem olmaya aday görüldüğü belirtilmektedir (10-16). Bu çalışmada trichomoniasis tanısında son yıllarda kullanılmaya başlayan PZR yöntemi, DM ve kültür yöntemleri birlikte değerlendirilmiş, Tv-E650 gen bölgesine özgü primerlerin ülkemizdeki suşları tanıyıp tanımadığı ve diğer bazı organizmalar ile çapraz reaksiyon verip vermediği araştırılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Örneklerin elde edilmesi

Bu çalışmada Aydın Doğum ve Çocuk Hastanesi, Kadın-Doğum polikliniğine 28/02/2008-19/03/2008 tarihleri arasında başvuran 102 kadın olgunun her birisine uygulanan jinekolojik muayene esnasında vajen arka fornixten pamuklu eküvyon ile alınan örnek 0, 5 ml steril serum fizyolojik içeren tüpe eklenmiş ve diğer bir eküvyonla alınan örnek ise önceden 37°C'ye ısıtılarak, TYM besiyerine alınmıştır. Serum fizyolojik içine alınan örnek DM amacı ile kullanıldıktan sonra 1500 devirde santrifüj edilerek dipteki çökelti PZR'da kullanılmak üzere -20°C'de saklanmıştır. Ayrıca daha önce kültür ile pozitif saptanan 20 olguya ait kültür örnekleri laboratuvarımızda haftada 3 gün pasajlanarak saklanmıştır. Kültürün ikinci gününde alınan 5 ml örnekler 1500 devirde santrifüj edilmiş ve dipteki çökelti PZR ile değerlendirilmek üzere -20°C'de saklanmıştır.

2.2. Tripticase Yeast extract Maltose (TYM) Besiyeri

TYM besiyeri (pH: 6.0) otoklavlandıktan sonra içine %10 inaktive dana serumu, 100 U/ml penisilin ve 10 µgr/ml gentamisin ilave edilmiştir (6). Daha sonra 15 ml'lik vidalı kapaklı cam tüplere bölünerek +4°C'de saklanmıştır. Örnekler besiyerine eklendikten sonra 37°C'de inkübe edilmiş ve bir hafta boyunca iki günde bir direkt mikroskopi ile incelenmiştir. Pozitif saptanan örnekler pasajlanarak canlılıkları korunmuştur.

2.3. DNA ekstraksiyonu

Bütün örneklerin DNA ekstraksiyonu High Pure PCR Template Preparation kiti ile üretici firmanın protokolü kullanılarak yapılmıştır (Roche Applied Science). DNA ekstraksiyonu sırasında her bir örnekten 200µl kullanılmış ve PZR reaksiyonu için dört farklı grup hazırlanmıştır. Bunlar sırasıyla 1) negatif kontrol (distile su içerir); 2) Pozitif kontroller (TYM besiyerinden alınan örneklerin seri sulandırılması ile elde edilen 3, 10, 10², 10³ miktarda *T. vaginalis* trofozoiti içeren örnekler); 3) Daha önceden vajinitli olgulardan izole edilen ve TYM kültüründe alt pasajları yapılarak canlılıklarını sürdüren 20 adet *T. vaginalis* suşundan hazırlanan örnekler 4) 102 hastaya ait vajinal sürüntü örnekleridir. Ayrıca çapraz reaksiyonların değerlendirilmesi amacı ile *Toxoplasma* spp, *Plasmodium* spp, *Leishmania* spp ve *Candida* spp. DNA ekstraksiyon örnekleri kullanılmıştır.

2.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile *T. vaginalis* DNA'sının araştırılması

PZR sırasında *T. vaginalis*'e ait Tv-E650 geni hedeflenmiş olup, bu gen 648 baz çiftinden (base pair: bp) oluşmaktadır (18). Tv-E650 geni A.B.D. Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi (GENBANK: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) veri tabanında M86488 olarak numaralandırılmıştır (Şekil 1). PZR sırasında Tv-E650 içinde yer alan 330 bp'lik (82-390 nükleotidler arası) DNA parçası, P1: 5'-GAGTTAGGG TATAATGTTTGATGTG-3' (25 nt, Tv-E650-1, forward primer) ve P2: 5'-AGAATGTGATAGCGAAATGGG-3' (21 nt, Tv-E650-2, reverse primer) primerleri kullanılarak amplifiye edilmiştir (19). PZR amplifikasyonunun reaksiyon karışımı, DNA ekstraksiyonundan elde edilen 3 µl kalıp DNA, 10 µM primerler (MWG Biotech), 0,2 µM deoksiribonükleotid trifosfat (Invitrogen), 1,25 u DNA polimeraz enzimi (Promega) ve 1* reaksiyon tamponu ile hazırlanmıştır. PZR amplifikasyon reaksiyonu 95°C'de 5 dakika başlangıç denatürasyonu sonrası, 30 saniye 94°C, 10 sn 50°C ve 30 saniye 72°C'lik 35 döngü olarak termal cyclus cihazında (Thermo) yürütülmüştür. Elde edilen PZR ürünleri %2 agaroz jel elektroforezi ile yürütülmüş ve oluşan ürünler görüntülenmiştir (Minibis Pro).

BULGULAR

Olgulardan alınan 102 vajinal sürüntü örneğinin üçünde DM ile (%2.94), beşinde TYM besiyeri (%4.90) ve beşinde PZR yöntemi (%4.90) *T. vaginalis* saptanmıştır (Şekil 2). DM ile pozitif saptanan olguların hepsi kültürde de pozitif olarak saptanırken biri PZR ile negatif olarak saptanmıştır. PZR ile pozitif saptanan bir olgu diğer yöntemler ile negatif olarak saptanmıştır. Bu üç yöntemden bir veya daha fazlası ile altı olguda (%5.88) pozitiflik saptanmıştır (Tablo 1 ve Tablo 2).

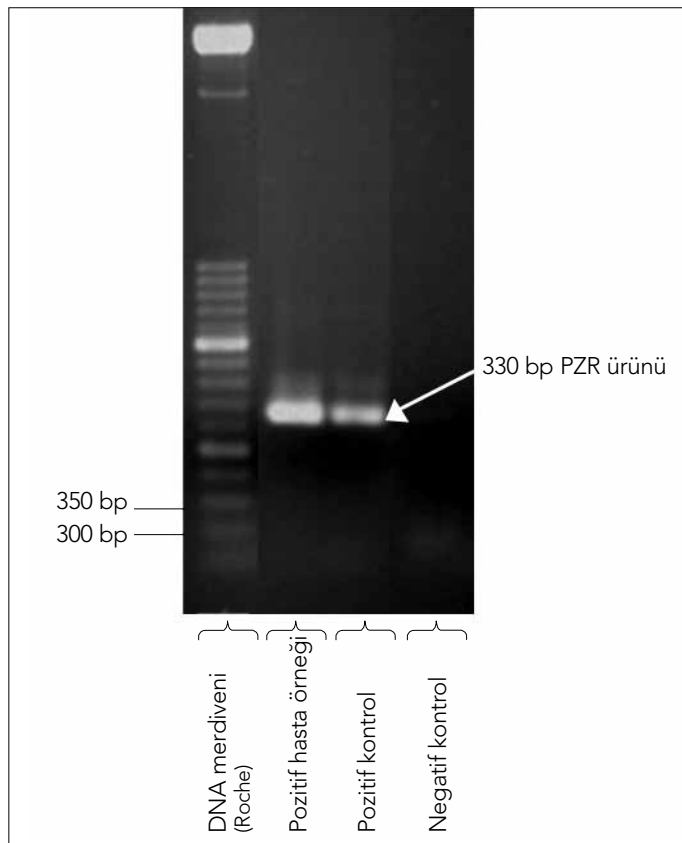
Negatif kontrol olarak kullanılan distile su ile bant paterni saptanmamıştır. TYM besiyerinden alınan bir örneğin seri sulandırılması ile elde edilen üç pozitif kontrol örneğinde yöntemin 3

Trichomonas vaginalis Tv-E650 geni (648 bp) M86488

```
GAATCCCGGATAATTGAAACGGATATGATAAAGAAAATGTGTTTAAGTTGATGGATAAAATGTTTTGTATTGAT  
GGGTAAGAGTTAGGGTCTAATGTTTGATGTGAAAATCTCATTGGGGTATTAACCTTTATCACATTTGATTAAAATG  
AAATTGGAACCGAGTGTGAGAATACAAAACATCCCCAACATCTTTTTCAAATTTAATATCCCCAACAAATGAACGA  
AGATGAGGAGTACAAAATTTAATTTTCAGCGGAAATTAATAAGGTTATTTATTTTCATCAAGTTCAAAGTTTAT  
CAGGTTTGATTTAAATTTCTTCATACCATACGATAATGATCATTAAATAACTTAAAATCATGTTAATATCCCATT  
TCGCTATCACATTAATTATATACATATCATACGTTTTTTTTCATGGTCATCTTTAATAAATGATATATAATCTGAA  
GGGTCTAAAAGAATGGGATTAATTTACCACTCACAGAAACGAGAGTAACATTATAAATTCGCTAACTGTTAAA  
TTAATTACACATATTATTGAAATAATATTGATAATTAGCATTTTTATTACGATTAATAAATATGGTAAAGCGT  
TATTTCCAGTGATAAATAAACTAGAATAAGATTACCTCAAGAATTC
```

Altı çizili DNA parçası (330 bp) PZR reaksiyonunda amplifiye edilen DNA bölgesidir. Koyu ve açık gri ile gösterilen DNA parçaları PZR reaksiyonunda kullanılan primerlerdir.

Şekil 1. NCBI veri tabanında *T. vaginalis*'e ait M86488 numaralı Tv-E650 geni



Şekil 2. *T. vaginalis* Tv-E650 gen bölgesine özgü primerler ile amplifiye edilen 330 bp PZR ürünü

parazite kadar saptayacak duyarlılıkta olduğu gösterilmiştir. Daha önce *T. vaginalis*'in pozitif hastalardan elde edilen 20 kültür örneğinde de 330 bp'lik bant paterni saptanmıştır. *Toxoplasma* spp., *Plasmodium* spp., *Leishmania* spp. ve *Candida* spp. DNA'ları pozitif olan örneklerde ise bant paterni görülmemiştir.

Kültür altın standart olarak kabul edildiğinde DM'nin duyarlılığı %60, özgüllüğü ise %100 olarak hesaplanmıştır. PZR'nun duyarlılığı %80, özgüllüğü ise %97.9 olarak hesaplanmıştır. PZR yöntemi altın standart olarak kabul edildiğinde kültürün duyarlılığı %80, özgüllüğü ise %98.9 olarak hesaplanmıştır. DM ise duyarlılığı %40, özgüllüğü %96.9 olarak bulunmuştur.

Tablo 1. *T. vaginalis*'in tanısında kullanılan yöntemler ile pozitif saptanılan örnekler

Yöntem	Pozitif (%)	Negatif (%)	Toplam (%)
Direkt Mikroskopi (DM)	3 (2.94)	99 (97.06)	102 (100)
Kültür (TYM)	5 (4.90)	97 (95.10)	102 (100)
PZR	5 (4.90)	97 (95.10)	102 (100)
DM+TYM+PZR	6 (5.88)	96 (94.12)	102 (100)

Tablo 2. *T. vaginalis*'in pozitif olarak saptanıldığı örneklerin ayrıntılı değerlendirmesi

Pozitif saptanan örnekler	Direkt mikroskopi (DM)	Kültür (TYM)	PZR
Olgu 1	P	P	N
Olgu 2	P	P	P
Olgu 3	P	P	P
Olgu 4	N	P	P
Olgu 5	N	P	P
Olgu 6	N	N	P

TARTIŞMA

T. vaginalis suşlarının yüksek oranda fenotipik varyasyon göstermesi nedeniyle ekspresyon seviyesinde ve/veya genomik sekanslarında farklılıklar gösterdiği ve bu nedenle PZR bazlı tanı yöntemlerinin geliştirilmesini zorlaştırdığı bilinmektedir. Trichomoniasis’de moleküler tanı testleri 1992 yılında ilk olarak denendikten sonra geliştirilmiş ve dezavantajları aşmaya çalışılmıştır. Araştırmacılar tarafından her geçen gün değişik gen bölgeleri hedefleyen primerlerin ve yeni tekniklerinin kullanıldığı PZR yöntemleri (Konvansiyonel PZR, Nested PZR, TaqMan problemleri kullanılan Real-time PZR, FRET problemleri kullanılan Real-Time PZR, PZR-ELISA) bildirilmektedir (10-15).

Yapılan çalışmalarda kültür yönteminin duyarlılığının PZR ile karşılaştırıldığında %34.9 ile %78 arasında değiştiği ve özgüllüğünün ise %100 olduğu bildirilmektedir. Benzer olarak DM'nin özgüllüğünün genellikle yüksek olduğu buna karşın duyarlılığının PZR ile karşılaştırıldığında zayıf olduğu ve %34.2 ile %58.5 arasında değiştiği bildirilmektedir. Değişik örneklerden ve değişik pri-

merlerin kullanıldığı çalışmalarda PZR yönteminin duyarlılığının %84-100, özgüllüğünün ise %82-100 arasında değiştiği belirtilmektedir (11, 13-15, 20).

Çalışmamızda kültür altın standart olarak kabul edildiğinde PZR'nun duyarlılığı %80, özgüllüğü ise %97.9 olduğu görülmektedir. Elde edilen sonuçların daha önce yapılan çalışmalar ile benzer olduğu görülmektedir. Direkt mikroskopinin de diğer çalışmalara benzer olarak duyarlılığının alınan altın standarda göre değişmekle beraber çalışmamızda %50 ile %66.6 arasında olduğu, özgüllüğünün ise %96.96 ile %100 arasında olduğu görülmektedir.

Tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de trichomoniasis yaygın olarak görülmektedir. Ülkemizde yapılan çalışmalarda *T. vaginalis* saptanma oranı incelenen gruba göre değişmekle birlikte %3-70 arasında değişen çok farklı sonuçlar bildirilmektedir (21-24). Aydın ilinde 2003 yılında yapılan bir çalışmada vajinal akıntılı olgularda DM ile %12, kültür ile %16 oranında *T. vaginalis* saptanmıştır (23). Bu çalışmada saptadığımız %5, 88'lik değerler daha önce saptanan değerden düşük olduğu ve bunun da örnek grubunun sadece semptomatik hastalardan değil rutin muayene için gelen tüm hastaları içermesinden kaynaklandığı düşünülmüştür.

Trichomoniasis tanısında kadın ve erkek hastalardan değişik örnekler alınabilmekte ve kullanılan testlerin duyarlılık ile özgüllüklerinin kullanılan örneğe bağlı olarak da değiştiği bildirilmektedir. En yaygın kullanılan örneğin kadınlarda vajina arka forniksinden pamuklu eküvyon ile alınan sürüntü örneği ve erkeklerde ise sabah ilk idrar olduğu bildirilmektedir. Fakat son zamanlarda kadınların kendilerinin evde alabildiği vajinal sürüntü örnekleri giderek yaygınlaşmaktadır (10, 11, 13-15, 25). Bu çalışmada da vajen arka forniksinden alınan sürüntü örnekleri kullanılmıştır.

Bir olgu kültür ve DM ile pozitif ve PZR ile negatif olarak saptanmıştır. Bunun örnek alımı, vajinal sıvıda bulunan PZR inhibitörlerine ya da kullanılan primerlerin suşu tanıyamamasına bağlı olabileceği düşünülmüştür. DM ve kültür ile negatif saptanan bir olgu da PZR ile pozitif saptanmıştır. Parazit sayısı az olduğunda ve canlı parazit olmadığında kültür ve DM ile saptanmasının güç olduğu bilinmektedir. Bu nedenle diğer yöntemler ile saptanmayan bir olgunun PZR ile saptanması umut verici olarak değerlendirilmiştir.

Trichomoniasisin PZR ile tanısında birçok değişik primer çifti kullanılarak farklı gen bölgeleri hedeflenmektedir. Ryu ve ark. bu çalışmada kullanılan Tv-E650 gen bölgesine özgü primerleri denedikleri araştırmada vajinal akıntı ile başvuran 177 hastanın %2'sinde DM ile, %3.3'ünde Pap smear ve kültür ile, %10.4'ünde PZR ile *T. vaginalis* saptanmıştır. Aynı çalışmada Pap smear için kontrole gelen ve vajinal semptomu bulunmayan 249 hastanın %1.4'ünde kültür ile, %2.4'ünde PZR ile *T. vaginalis* saptadıklarını bildirmişlerdir. Her iki hasta grubunda da DM, Pap smear ya da kültüre göre PZR ile daha fazla sayıda *T. vaginalis* olgusu saptadıklarını bildirmişlerdir. Bunun yanında PZR yönteminin özgüllük ve duyarlılığının %100 olduğunu bildirmişlerdir (19).

PZR yönteminin pahalı bir yöntem olmasına karşın tanısal duyarlılığı artırdığı ve daha fazla olgunun tedavi edilmesini sağlayarak cinsel yolla bulaşan bu hastalığın etkilerinin ve komplikasyonlarının hafiflemesine yol açarak klinikte önemli bir geri dönüş sağla-

dığı yapılan çalışmalarda üzerinde durulan önemli bir unsurdur. Bizim çalışmamızda PZR ve kültür yöntemi ile aynı sayıda parazit belirlenmekle birlikte beraber kullanıldıklarında daha fazla sayıda hasta saptadıkları, testlerin her üçünün beraber kullanıldığında ise pozitiflik oranının arttığı görülmektedir. Diğer primer bölgele-ri ve PZR yöntemlerinin de denenmesi ile ülkemizdeki suşları tanıyan en iyi PZR yöntemi ve primerlerin seçilmesi sağlanabilecektir. Bu çalışma ülkemizde trichomoniasis tanısında PZR yönteminin kullanıldığı ilk çalışma olup gelecekteki çalışmalara bir basamak olacağını düşünmekteyiz.

Çıkar Çatışması

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

KAYNAKLAR

1. World Health Organization. Global prevalence and incidence of selected curable sexually transmitted infections: overviews and estimates. WHO/HIV-AIDS/2001,02.Geneva:World Health Organization 2001. http://www.who.int/hiv/pub/sti/who_hiv_aids_2001.02.pdf ö
2. Cates W, Joesoef RJ, Goldman M. Atypical pelvic inflammatory disease: can we identify clinical predictors? Am J Obstet Gynecol 1993; 169: 341-6.
3. Cotch MF, Pastorek JG II, Nugent RP, Hillier SL, Gibbs RS, Martin DH, et al. *Trichomonas vaginalis* associated with low birth weight and preterm delivery. Sex Transm Dis 1997; 24: 353-60. [CrossRef]
4. Pastorek JG II, Cotch MF, Martin DH, Eschenbach DA. Clinical and microbiological correlates of vaginal trichomoniasis during pregnancy. Clin Infect Dis 1996; 23: 1075-80.
5. McClelland RS, Sangare L, Hassan WM, Lavreys L, Mandaliya K, Kiarie J, et al. Infection with *Trichomonas vaginalis* increases the risk of HIV-1 acquisition. J Infect Dis 2007; 195: 698-702. [CrossRef]
6. Sorvillo F, Smith L, Kerndt P, Ash L. *Trichomonas vaginalis*, HIV and American- Africans. Emerg Infect Dis 2001; 7: 927-32.
7. Garber GE. The laboratory diagnosis of *Trichomonas vaginalis*. Can J Infect Dis Med Microbiol 2005; 16: 35-8.
8. Scwebke JR, Burgess D. Trichomoniasis. Clin Microbiol 2004; 17: 794-803.
9. Riley D, Roberts M, Takayama T, Krieger JN. Development of a polymerase chain reaction-based diagnosis of *Trichomonas vaginalis*. J Clin Microbiol 1992; 30: 465-72.
10. Hardick A, Hardick J, Wood BJ, Gaydos C. Comparison between the Gen-Probe transcription-mediated amplification *Trichomonas vaginalis* research assay and real-time PCR for *Trichomonas vaginalis* detection using a Roche LightCycler instrument with female self-obtained vaginal swab samples and male urine samples. J Clin Microbiol 2006; 44: 4197-9.
11. Jordan JA, Lowery D, Trucco M. TaqMan-based detection of *Trichomonas vaginalis* DNA from female genital specimens. J Clin Microbiol 2001; 39: 3819-22. [CrossRef]
12. Kaydos SC, Swygard H, Wise SL, Sena AC, Leone PA, Miller WC, et al. Development and validation of a PCR-based enzyme-linked immunosorbent assay with urine for use in clinical research settings to detect *Trichomonas vaginalis* in women. J Clin Microbiol 2002; 40: 89-95. [CrossRef]
13. Kaydos-Daniels SC, Miller WC, Hoffman I, Banda T, Dzinyemba W, Martinson F, et al. Validation of a urinebased PCR-enzyme-linked immunosorbent assay for use in clinical research settings to detect *Trichomonas vaginalis* in men. J Clin Microbiol 2003; 41: 318-23. [CrossRef]
14. Kegne P, Veas F, Vidal N, Rey JL, Cuny G. *Trichomonas vaginalis* repeated DNA target for highly sensitive and specific polymerase chain reaction diagnosis. Cell Mol Biol 1994; 40: 819-31.
15. Lawing LF, Hedges JR, Scwebke JR. Detection of trichomoniasis in vaginal and urine specimens from women by culture and PCR. J Clin Microbiol 2000; 38: 3585-8.
16. Mayta H. 18S Ribosomal DNA-Based PCR for Diagnosis of *Trichomonas vaginalis*. J Clin Microbiol 2000; 38: 2683-7.
17. Daldal N, Özensoy S, Aksoy Ü, Akisü Ç. Besiyeri ve hayvan inokülasyonları, Özcel MA, Altıntaş N, eds. Parazit Hastalıklarında Tanı. İzmir, Ege Üniversitesi Basımevi, 1997; p. 149-82.

18. Paces J, Urbankova V, Urbanek P. Cloning and characterization of a repetitive DNA sequence specific for *Trichomonas vaginalis*. Mol Biochem Parasitol 1992; 54: 247-55. [CrossRef]
19. Ryu JS, Chung HL, Min DY, Cho YH, Ro YS, Kim SR. Diagnosis of trichomoniasis by polymerase chain reaction. Yonsei Med J 1999; 40: 56-60.
20. Pillay A, Radebe F, Fehler G, Htun Y, Ballard RC. Comparison of a TaqMan-based real-time polymerase chain reaction with conventional tests for the detection of *Trichomonas vaginalis*. Sex Transm Infect 2007; 83: 126-9.
21. Akarsu GA, Çelik T, Güngör Ç, Altıntaş K. Ankara'da çalışan genelev kadınlarında *Trichomonas vaginalis* sıklığı. Türkiye Parazitoloj Derg 2003; 27: 252-4.
22. Ayhan N, Başbuğ N, Hakkıbilen S. Vajinal akıntılarının mikrobiyolojik değerlendirilmesi. Türk Hij Den Biyol Derg 1996; 53: 7-11.
23. Ertabaklar H, Ertuğ S, Kafkas S, Odabaşı A, Karataş E. Vajinal Akıntılı Olgularda *Trichomonas vaginalis* Araştırılması, Türkiye Parazitoloj Derg 2004; 28: 181-4.
24. Suay A, Yayla M, Mete Ö, Elçi S. 300 hayat kadınında direkt mikroskop ve kültür yöntemleriyle *Trichomonas vaginalis* ve buna bağlı olarak Trikomoniyaz'ın araştırılması. Türkiye Parazitoloj Derg 1995; 19: 170-3.
25. Caliendo AM, Jordan JA, Gren AM, Ingersoll J, Diclemente RJ, Wingood GM. Real-Time PCR improves detection of *Trichomonas vaginalis* infection compared with culture using self-collected vaginal swabs. Infect Dis Obstet Gynecol 2005; 13: 145-50. [CrossRef]