

T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
TÜRKİYE KAMU HASTANELERİ KURUMU
Ankara İli 1. Bölge Kamu Hastaneleri Birliği Genel Sekreterliği
ANKARA EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ BÖLÜMÜ



CİNSEL YOLLA BULAŞAN ENFEKSİYON ETKENLERİNİN TANISINDA
KULLANILAN KONVANSİYONEL YÖNTEMLER VE DPO™ (DUAL
PRİMING OLİGONÜKLEOTİD) TABANLI MULTİPLEKS PCR YÖNTEMİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ

Bio. Demet Furkan SEVİNDİ

ANKARA-2013

T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
TÜRKİYE KAMU HASTANELERİ KURUMU
Ankara İli 1. Bölge Kamu Hastaneleri Birliği Genel Sekreterliği
ANKARA EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ BÖLÜMÜ



CİNSEL YOLLA BULAŞAN ENFEKSİYON ETKENLERİNİN TANISINDA
KULLANILAN KONVANSİYONEL YÖNTEMLER VE DPO™ (DUAL
PRİMING OLİGONÜKLEOTİD) TABANLI MULTİPLEKS PCR YÖNTEMİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ

Bio. Demet Furkan SEVİNDİ

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Berrin ESEN

Uzm. Dr. Ufuk ÖNDE

ANKARA-2013

TEŞEKKÜRLER

Asistanlık sürecimin yarısından fazlasını geçirdiğim Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı'nda (RSHMB) şefim ve tez danışmanım, çok değerli hocam sayın Doç. Dr. Berrin Esen'e, uzmanlık eğitimim boyunca ve tezimin tüm aşamalarında gösterdiği sonsuz destek, yardım, öneri ve her zaman hayran kaldığım açılımları için, engin bilgi ve tecrübelerinden faydalanma fırsatı bulduğum için, eğitimim dışında sosyal yaşamımda da gösterdiği sonsuz sevgi ve şefkat için çok teşekkür ederim.

Asistanlığımın geri kalan süresini geçirdiğim Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde (AEAH), tezimin her aşamasında sağladığı üstün destek ve yardımlarından dolayı, tez danışmanım, başasistanım, sevgili hocam sayın Uzm. Dr. Ufuk Önde'ye,

Tezimin moleküler çalışmalarında yardımlarını esirgemeyen, bilgi ve birikimlerini her daim biz asistanlarla paylaşan, samimiyeti ile gönlümde yeri olan sayın hocam Doç. Dr. Ayşe Esra Karakoç'a,

Uzmanlık eğitimim sürecinde ve tezimde yardımlarını esirgemeyen sayın hocam Doç. Dr. Ali Kudret Adiloğlu'na,

RSHMB'da, eğitimim için gösterdiği emekler ve paylaşımları için sayın hocam Doç. Dr. Nilay Çöplü'ye,

RSHMB'da, asistanlık eğitim sürecimde, akademik hayatıma sonsuz katkısı olan, yardım ve bilimsel görüşlerini benden esirgemeyen, aynı zamanda samimiyetini ve sevgisini her zaman hissettiğim sayın hocam Doç. Dr. Ayşegül Gözalan'a,

RSHMB'da, gösterdiği başta iyi niyeti, güler yüzü olmak üzere sağladığı imkânlar, yardım ve paylaşımları için başasistanım sayın hocam Uzm. Dr. Belkıs Levent'e,

RSHMB ve AEAH'inde beraber çalışmaktan onur duyduğum tüm başasistanlarıma, mikrobiyoloji uzmanlarıma, başta Dr. Emek Türkekul Şen olmak üzere aynı yolda yürüdüğümüz tüm asistan arkadaşlarıma,

Bu süreç boyunca beraber çalıştığım tüm teknisyen, laboratuvar çalışanları, hemşire ve sağlık çalışanlarına, tezimin moleküler çalışmalarında yardımcı olan Bio. Aykut Özer (M.Sc.)’e,

Hayatımın her anında ve tüm kararlarımda yanımda oldukları ve sonsuz destekleri için, çok sevdiğim canım annem ve babam Faika-Mehmet Karadayı’ya, canım kardeşim ve eşi Murat-Neslihan Karadayı’ya ve tüm aile büyüklerime,

Hayatımın her aşamasında, sevgisi ve ilgisi ile bana destek olan, tezimde emeği geçen biricik eşim Gökhan Sevindi’ye,

Sonsuz Teşekkürler...

ÖZET

Cinsel yolla bulaşan enfeksiyonlar (CYBE); sık görülmeleri, ciddi komplikasyon ve sekellere neden olmaları, önemli ekonomik kayıplara yol açmaları nedeniyle, gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde önemli halk sağlığı problemleri arasında sayılmaktadır. Gelişmekte olan ülkelere, cinsel yolla bulaşan enfeksiyon etkenleri (CYBE) ve komplikasyonları, yetişkin sağlık hizmetlerinde en sık rastlanan ilk 5 hastalık kategorisi içinde yer almaktadır. Çalışmamızda; CYBE etkenleri içinde dünyada da sık karşılaşılan ve önemli sayılan *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Mycoplasma genitalium*, *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*, ve *Trichomonas vaginalis*'in tanımlanmasında kullanılan, konvansiyonel yöntemler ve yeni bir yöntem olan DPOTM (Dual priming oligonükleotid) tabanlı multipleks PCR yönteminin karşılaştırılması amaçlanmıştır. Ayrıca bu yöntemin, non-invaziv olarak elde edilen idrar örneklerinde de benzer çalışmanın yapılmasına olanak tanınması sebebi ile invaziv servikal/üretal örneklerle alınan sonuçların karşılaştırılması da hedeflenmiştir.

Metodolojik tipte olan çalışmamıza, Şubat- Mayıs 2013 döneminde T.C. Sağlık Bakanlığı Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi (AEAH) Üroloji Polikliniği ve Kadın Hastalıkları ve Doğum Polikliniği'ne başvuran semptomatik 46 erkek ve 50 kadın hasta olmak üzere toplam 96 hasta dahil edilmiştir. Konvansiyonel yöntemler olarak; *N. gonorrhoeae* tanısı için kültür ve direkt mikroskopi (DM), *C. trachomatis* için ticari Direkt Floresan Antikor Testi (DFA) (Fluorotect® Chlamydia, Omega Diagnostics, İngiltere), *T. vaginalis* için direkt bakı ve Modifiye Diamond kültür ekimi uygulandı. *M. hominis* ve *U. urealyticum* için kültür tabanlı ticari identifikasyon kiti (MYCOFAST® Evolution N 3) kullanıldı. DPOTM Multipleks PCR yöntemi için nükleik asit izolasyonu; GeneAll® RibospinTM vRD ekstraksiyon kiti (GeneAll BiotechnologyCo., LTD, Seoul, Kore) ve DNA amplifikasyonu, Seeplex® STD6 ACE Detection kiti (Seegene, Seoul, Kore) ile üreticinin talimatlarına göre yapılmıştır. *N. gonorrhoeae*, *C. trachomatis*, *T. vaginalis* ve *M. genitalium* etkenleri için sürüntü örneklerinde pozitif çıkan 22 hasta, multipleks PCR ile idrar örneklerinden de çalışılmıştır.

Çalışmamıza katılan 96 hastanın 38'inde (%39,6) çalışılan tüm yöntemler ile her hangi bir etken saptanmamıştır. Pozitiflik saptanan 58 hastanın 10'unda sadece *Candida spp.* üremesi görülmüştür. Çalışma kapsamındaki etkenler araştırıldığında, 48 hastanın

32'sinde (%66,7) tek etken pozitifliği mevcutken, 16'sında (%33,3) çoklu etken pozitifliği saptanmıştır. Etkenlerin görülme sıklığına baktığımızda; *N. gonorrhoeae* %7,3 (7/96), *C.trachomatis* %8,3 (8/96), *T. vaginalis* %4,2 (4/96), *M. genitalium* %6,3 (6/96), *M. hominis* %11,5 (11/96), *U. urealyticum* %33,3 (32/96) oranlarında kullanılan bir veya iki yöntem ile pozitif olarak bulunmuştur. En sık görülen etken *U. urealyticum* iken ikinci sırayı *M. hominis* takip etmiştir. Multipleks PCR'nin gonokok kültürü, gonokok DM'si ve klamidy DFA testine göre duyarlılık, özgüllük, PPD ve NPD'i hepsi için %100 olarak bulunmuştur. Multipleks PCR'nin Mycofast kiti ile karşılaştırıldığında duyarlılık, özgüllük, PPD ve NPD'i sırasıyla mycoplasma için %88,9, %97,7, %80, %98,8 ve ureaplasma için %77,8, %82,1, %50 ve %94,1 olarak saptanmıştır. Trichomonas kültür ve DM'si ile karşılaştırıldığında multipleks PCR'nin duyarlılık, özgüllük, PPD ve NPD'i sırasıyla kültür için %100, %97,9, %50,0, %100 ve DM için %100, %96,8, %25,0, %100 olarak bulunmuştur. Sadece multipleks PCR çalışılan *M. genitalium* için hastaların 6'sında (%6,3) akıntı örneğinde, 5'inde idrarda pozitiflik saptanmıştır. Pozitif 22 hastanın idrar ve sürüntü örneğinde çalışılan multipleks PCR bulgularına bakıldığında, çok ve tek etken pozitifliği görülen 16 hastanın (%72,7) sonuçlarının tam olarak uyumlu olduğu gözlenmiştir.

Kullanılan DPO TM Multipleks PCR'nin yüksek duyarlılığa sahip olduğu ve bazı etkenlerin tespitinde artışa neden olduğu gözlenmiştir. Aynı anda birden fazla etkenin hızlı tanısını sağlaması nedeniyle CYBE etkenlerinin taraması veya süreyansında kullanılabilecek başarılı bir yöntem olduğu düşünülmüştür. Bulaşmayı en aza indirmek için hızlı tanı ve tedavi önemli olduğundan multipleks PCR avantajlı görünmektedir. Ayrıca non-invaziv idrar örnekleri ile invaziv örnekler arasında multipleks PCR'nin rölatif uyumlu olması dikkat çekmiştir.

Anahtar Kelimeler: Cinsel yolla bulaşan enfeksiyon etkenleri, konvansiyonel yöntemler, multipleks PCR

ABSTRACT

Sexually transmitted diseases (STDs) are accepted as one of the major public health problems in developed and developing countries due to that they are encountered frequently, cause serious complications and sequelae, give rise to significant economic losses. In developing countries, the pathogens of sexually transmitted diseases (STDs) and its complications are included in the first five diseases categories which are the most common in adult health services. The aim of this study was to compare the conventional methods and a new method, DPOTM (Dual Priming Oligonucleotide)-based multiplex PCR method, that are used to identify *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Mycoplasma genitalium*, *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*, and *Trichomonas vaginalis* which are the most common pathogens of STDs in the world and regarded as important microorganisms. In addition, due to that this method enables to carry out the similar study on urethral samples obtained as non-invasive, it was also aimed to compare the results of invasive samples such as cervical / urethral.

Totally 96 patients, 46 male and 50 female patients with symptoms, attended to Turkey Ministry of Health, Ankara Training and Research Hospital (AEAH) Department of Urology and Obstetrics and Gynecology were included in our methodological type study. As conventional methods; culture and direct microscopy for determination of *N. gonorrhoeae*, trade Direct Fluorescent Antibody Test (DFA) (Fluorotect® Chlamydia, Omega Diagnostics, İngiltere) for *C. trachomatis*, direct microscopy and Modified Diamond culture were performed for *T. vaginalis*. Culture based trade identification kit (MYCOFAST® EvolutionN 3) was used for *M. hominis* and *U. urealyticum*. In DPOTM Multiplex PCR method GeneAll® RibospinTM vRD extraction kit (GeneAll Biotechnology Co., LTD, Seoul, Kore) is used, for nucleic acid isolation and for DNA amplification Seeplex® STD6 ACE Detection kit (Seegene, Seoul, Kore) is used in accordance with manufacturer's instruction. Urine samples of totally 22 patients who were found to be positive in swab samples for pathogens of *N. gonorrhoeae*, *C. trachomatis*, *T. vaginalis* and *M. genitalium* were also studied with multiplex PCR.

No pathogen was identified in 38 of 96 patients (39.6%) by any of the methods. *Candida spp.* was the only pathogen isolated in the 10 of 58 patients who were detected as positive. When the pathogens were investigated within the scope of study, while a single pathogen was detected in 32 of 48 patients (66.7%), multiple pathogens were detected in 16 of 48 patients (33.3 %). The prevalence of pathogens were; 7.3% (7/96) for *N. gonorrhoeae*, 8.3% (8/96) for *C. trachomatis*, 4.2% (4/96) for *T. vaginalis*, 6.3% (6/96) for *M. genitalium*, 11.5% (11/96) for *M. hominis*, 33.3% (32/96) for *U. urealyticum* by either one or two test methods. While the most prevalent pathogen was *U. urealyticum*, *M. hominis* was detected as second pathogen. The sensitivity, specificity, Positive Predictive Value (PPV), Negative Predictive Value (NPV) of Multiplex PCR were found as 100% for all of the tests applied; *N. gonorrhoeae* culture, *N. gonorrhoeae* DM, chlamydial DFA. When multiplex PCR was compared with Mycofast kit, sensitivity, specificity, PPV, and NPV were detected as 88.9%, 97.7%, 80%, 98.8% for *mycoplasma* and 77.8%, 82.1%, 50% and 94.1% for *ureaplasma*, respectively. When multiplex PCR was compared with *Trichomonas* culture and *Trichomonas* DM, sensitivity, specificity, PPV, and NPV were detected as 100%, 97.9%, 50%, 100% for culture and 100%, 96.8%, 25% and 100% for DM, respectively. *M. genitalium* was detected in swab samples of 6 (6.3%) and in urine samples of 5 patients by multiplex PCR which is the only method studied for the detection of this pathogen. When the findings of multiplex PCR studied on urine and swab samples of 22 patients detected as positive were analyzed, it was observed that the result of 16 (72.7%) patients in whom single and multiple pathogens detected positive, were fully compatible with multiplex PCR.

It was observed that DPO TM Multiplex PCR has high sensitivity and cause an increase for detection of some of the pathogens. It was considered to be a convenient method for screening or surveillance of STD providing the rapid detection of multiple pathogens at the same time. As rapid detection and treatment of an infection is important to minimize the contagion, multiplex PCR seems to be advantageous. It was also noted that multiplex PCR is relatively compatible for invasive and non-invasive urine samples.

Keywords: Sexually transmitted infectious pathogens, conventional methods, multiplex PCR

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEŞEKKÜRLER	iii
ÖZET	v
ABSTRACT	vii
İÇİNDEKİLER	ix
KISALTMALAR DİZİNİ	xii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xv
TABLolar DİZİNİ	xvi
RESİMLER DİZİNİ	xviii
GRAFİKLER DİZİNİ	xix
1.GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. CYBE toplum için neden önemli?	3
2.2. CYBE’ın sınıflandırılması ve etkenler	4
2.3. CYBE’ın epidemiyolojisi	5
2.3.1. Dünyada Durum	5
2.3.2. Türkiye’de Durum	8
2.4. CYBE’ın risk faktörleri ve sosyoekonomik sonuçları	10
2.5. CYBE’ın komplikasyonları	11
2.6. CYBE’ın tedavisi ve direnç	12
2.7.CYBE’ın önlenmesi ve kontrolü	14
2.8. Önemli CYBE etkenleri ve tanı yöntemleri	15
2.8.1. <i>Neisseria gonorrhoeae</i> ve laboratuvar tanısında kullanılan yöntemler	15
2.8.2. <i>Chlamydia trachomatis</i> ve laboratuvar tanısında kullanılan yöntemler	17
2.8.3. <i>Mycoplasma hominis</i> , <i>Ureaplasma urealyticum</i> , <i>Mycoplasma genitalium</i> ve laboratuvar tanısında kullanılan yöntemler	20
2.8.4. <i>Trichomonas vaginalis</i> ve laboratuvar tanısında kullanılan yöntemler	21

3. GEREÇ ve YÖNTEM	23
3.1. Hastaların Seçimi	23
3.2. Örneklerin Alınması ve Taşınması	23
3.3. Etkenlere Göre Örneklerin İşlenmesi ve Uygulanan Konvansiyonel Yöntemler	26
3.3.1. <i>Neisseria gonorrhoeae</i>	26
3.3.1.1. Direkt Mikroskopik İnceleme	26
3.3.1.2. Kültür Yöntemi	27
3.3.2. <i>Chlamydia trachomatis</i>	29
3.3.2.1. Direkt Floresan Antikor Testi (DFA)	29
3.3.3. <i>Mycoplasma hominis</i> , <i>Ureaplasma urealyticum</i> , <i>Mycoplasma genitalium</i>	31
3.3.3.1 Kültür Tabanlı Ticari İdentifikasyon Kiti (MYCOFAST® EvolutionN 3)	31
3.3.4. <i>Trichomonas vaginalis</i>	34
3.3.4.1. Direkt Mikroskopi Yöntemi	34
3.3.4.2. Kültür Yöntemi	34
3.4. DPO™ (Dual primingoligonükleotid) tabanlı multipleks PCR yöntemi	36
3.4.1. DNA Ekstraksiyonu	36
3.4.2. DNA Amplifikasyonu	40
3.4.3. Multipleks PCR Ürünlerinin Görüntülenmesi ve Analizi (ScreenTape Sistemi)	43
3.5. Verilerin İstatiksel Değerlendirilmesi	45
4. BULGULAR	47
4.1. <i>Neisseria gonorrhoeae</i> Bulguları	55
4.2. <i>Chlamydia trachomatis</i> Bulguları	57
4.3. <i>Mycoplasma hominis</i> Bulguları	59
4.4 <i>Ureaplasma urealyticum</i> Bulguları	61
4.5. Kültür tabanlı yöntemle <i>M. hominis</i> ve <i>U. urealyticum</i> saptanan örneklerde antibiyotik direnç sonuçları	62
4.6. <i>Mycoplasma genitalium</i> Bulguları	63
4.7. <i>Trichomonas vaginalis</i> Bulguları	65

4.8. Akıntı örneğinden <i>N. gonorrhoeae</i> , <i>C. trachomatis</i> , <i>M. genitalium</i> , <i>T. vaginalis</i> pozitif bulunan hastaların idrar örneklerinden çalışılan multipleks PCR sonuçlarının karşılaştırılması	67
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	68
KAYNAKLAR	88
EKLER	

KISALTMALAR DİZİNİ

ABD	Amerika Birleşik Devletleri
AIDS	Edinsel İmmun Yetmezlik Sendromu
AZM	Azitromisin
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
CF	Kompleman fiksasyonu
CIP	Siprofloksasin
CYBE	Cinsel Yolla Bulaşan Enfeksiyonlar
DFA	Direkt Floresan Antikor Testi
DM	Direkt Mikroskopi
DNA	Deoksiribonükleik Asit
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
DO	Doksisiklin
EB	Elementer cisimcik
ECDC	European Centre for Disease Prevention and Control
EIA	Enzyme immunoassay
ELISA	Enzyme- linked immunosorbent assay
FDA	US Food and Drug Administration
FITC	Floresan izotiyosiyonat
GNID	Gram Negatif İntraselüler Diplokoklar
HIV	İnsan İmmun Yetmezlik Virüsü

HSV	Herpes simplex virus
HAV	Hepatit A virusu
HBV	Hepatit B virusu
HPV	Human papillomavirus
JM	Josamisin
LCR	Ligaz zincir reaksiyonu
LGV	Lenfo granüloma venerum
LOS	Lipooligosakkarit
MD	Modifiye Diamond
MIF	Mikroimmunofloresans
MTM	Modifiye Thayer Martin
NAAT	Nükleik Asit Amplifikasyon Testleri
NGU	Non gonokoksik üretrit
NPD	Negatif Prediktif Değer
OFX	Ofloksasin
OPA	Opasite proteinleri
PBS	Phosphated Buffer Solution
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PEH	Pelvik Enflamatuvar Hastalık
PNL	Polimorf Nüveli Lökositler
POC	Hızlı Tanı Testleri

PPD	Pozitif Prediktif Değer
PT	Pristinamisin
RB	Retiküler cisimcik
ROX	Roksitromisin
SDA	Strand-displacement amplifikasyon
TMA	Transkripsiyon aracılı amplifikasyon
UMMt	Mycoplasma taşıma besiyerine

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
2.1. Avrupa’da klamidya vaka sayıları, 2010.	6
2.2. 1995-2010 yılları arasında Avrupa’da raporlanan klamidya vakalarının eğilimi.	6
2.3. 2006-2010 yılları arasında Avrupa’da raporlanan gonore vaka sayısındaki rölatif değişiklik.	7
3.1. MYCOFAST® EvolutionN3 kitinde kullanılan yöntem	33
3.2. DNA ekstraksiyonunun basamakları	39
3.3. DPO™ Teknolojisinin temel prensibi, Poly (I) bağı aktivasyonu	40
3.4. DPO™ Primer Teknolojisinin Temel Prensibi	41
3.5. ScreenTape® Analiz Sistemi	43

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo	Sayfa
2.1. Cinsel Yolla Bulaşan Bazı Enfeksiyon Etkenleri	4
3.1. Modifiye Diamond besiyerinin içeriği	35
3.2. Seeplex STD6 ACE Detection Kit	41
3.3. Multipleks PCR Protokolü	42
3.4. Kappa istatistiği değerlendirilmesinde kullanılan kriterler	46
4.1. Çalışmaya alınan tüm hastaların sosyodemografik özellikleri	48
4.2. Tüm hastaların bazı cinsel yaşam davranışlarına göre dağılımı	50
4.3. Etkenlerin tek başına ve çoklu etken olarak saptanma durumu	54
4.4. Pozitiflik saptanan hastalarda gözlenen çoklu etken profilleri	55
4.5. <i>N. gonorrhoeae</i> pozitifliği saptanan hastaların bazı demografik ve cinsel davranış özelliklerine göre dağılımı (n:96)	56
4.6. <i>C. trachomatis</i> pozitifliği saptanan hastaların bazı demografik ve cinsel davranış özelliklerine göre dağılımı	58
4.7. <i>M. hominis</i> sonuçlarının kültür tabanlı yöntem ve multipleks PCR (akıntı) ile karşılaştırılması	59
4.8. <i>M. hominis</i> pozitifliği saptanan hastaların yaş grupları, cinsiyet ve bazı cinsel yaşam özelliklerine göre dağılımı	60
4.9. <i>U. urealyticum</i> sonuçlarının kültür tabanlı yöntem ve multipleks	

PCR (akıntı) ile karşılaştırılması	61
4.10. <i>U. urealyticum</i> pozitifliği saptanan hastaların yaş grupları, cinsiyet ve bazı cinsel yaşam özelliklerine göre dağılımı	62
4.11. <i>M. genitalium</i> pozitifliği saptanan olgular (n:6)	63
4.12. <i>M. genitalium</i> pozitifliği saptanan hastaların yaş grupları, cinsiyet ve bazı cinsel yaşam özelliklerine göre dağılımı	64
4.13. <i>T. vaginalis</i> pozitifliği saptanan olguların çalışılan tüm yöntemler ile ayrıntılı değerlendirilmesi ve karşılaştırılması	65
4.14. Multipleks PCR ve Kültür sonuçlarının karşılaştırılması	66
4.15. Multipleks PCR ve Mikroskopi sonuçlarının karşılaştırılması	66
4.16. Sürüntü ve İdrar Örneklerinin multipleks PCR sonuçlarının karşılaştırılması (n:22)	68
5.1. Çeşitli çalışmalarda <i>T. vaginalis</i> tanı testlerinin karşılaştırılması	84

RESİMLER DİZİNİ

Resim	Sayfa
3.1. <i>Neisseria gonorrhoeae</i> 'de intrasellüler yerleşimli gram negatif kahve çekirdeği şeklinde diplokoklar	27
3.2. MTM ve İnsan Kanlı besiyerinde, ürettiğimiz <i>Neisseria gonorrhoeae</i> suşlarının koloni görünümleri	28
3.3. <i>Chlamydia trachomatis</i> 'in DFA Testinde Floresan Mikroskopunda Görünümü	30
3.4. MYCOFAST® EvolutionN3 kitinin traylerinin değerlendirilmesi	34
3.5. Metilen Mavisi içeren inoküle MD	35
3.6. Multipleks PCR tek etken pozitif hasta örneği, pozitif kontrol ve negatif kontrol görünümleri ve etkenlerin değerlendirilmesi için kullanılan baz uzunlukları	41
3.7. Tek ve çok etkenli örneklerin multipleks PCR sonuçları	42

GRAFİKLER DİZİNİ

Grafik	Sayfa
4.1. Çalışmaya katılan tüm hastaların meslek gruplarına göre dağılımı	49
4.2. Kadın ve erkek hastalarda görülen semptomların dağılımı	51
4.3. Hasta sonuçlarının negatiflik, pozitiflik, tek etken ve çoklu etken saptanma durumuna göre dağılımı	52
4.4. Tez kapsamındaki etkenlerin görülme sıklığı	53

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Cinsel yolla bulaşan enfeksiyonlar (CYBE); sık görülmeleri, ciddi komplikasyon ve sekellere neden olmaları, önemli ekonomik kayıplara yol açmaları nedeniyle, gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde önemli halk sağlığı problemleri arasında sayılmaktadır.

Cinsel yolla bulaşan enfeksiyonların asemptomatik olarak görülme oranının yüksek olması dikkat çekmektedir. Buna ek olarak tedavi edilmeyen CYBE, insan immün yetmezlik virüsü (HIV)/edinsel immün yetmezlik sendromu (AIDS) enfeksiyonlarının edinilme ve bulaşma riskini de 2-3 kat kadar arttırmaktadır. Bu yüzden, CYBE'nin kontrol altına alınması HIV enfeksiyonlarının önlenmesi için de ayrıca önem arz etmektedir (1). CYBE'nin HIV'in bulaşmasını kolaylaştırdığının anlaşılması üzerine, son yıllarda CYBE'a verilen önem artmış ve küresel düzeyde çok çeşitli önleme programları uygulamaya konulmaya başlamıştır.

Dünyada birçok ülkede gençler CYBE açısından risk altındadır. "Centers for Disease Control and Prevention (CDC)" tahminlerine göre Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'de her yıl 20 milyon yeni CYBE olgusu gelişmektedir ve bu olguların yaklaşık yarısı 15-24 yaş arasında bulunan adolesan ve genç erişkinlerdir (2). CYBE riski, cinsel gelişim yaşının düşmesi, cinsel aktivitenin erken başlaması ve evlilik yaşının yükselmesi nedeniyle artmaktadır. CYBE ve korunma hakkında bilgi yetersizliği, koruyucu yöntemlere ulaşmada karşılaşılan maddi ve sosyal zorluklar bu hastalıkların sık görülmesine neden olmaktadır.

Riskli kabul edilen davranışlardan kişisel cinsel davranışlar arasında; son bir yılda çok sayıda cinsel eş, son 3 ayda yeni/farklı cinsel eş, son bir yılda başka bir CYBE geçirmiş olma, para/eşya/uyuşturucu madde karşılığı cinsel ilişkide bulunma, korunmasız cinsel ilişki, kondom ile anal seks sayılırken, diğer kişisel riskli davranışlar arasında ise piercing (vücuda küpe takılması), dövme, kan nakli, intravenöz uyuşturucu kullanımı, alkollü içecek kullanılması sayılabilir.

CYBE'nin görülme sıklığı tüm dünyada giderek artmaktadır. Bunun nedenleri; özellikle gelişmekte olan ülkelerde cinsel eğitim programlarının yetersizliği, gelişmiş ve

gelişmekte olan ülkelerde cinsel ilişki yaşının küçülmesi, evlilik öncesi cinsel ilişki ve cinsel eş sayısındaki artış, seyahat imkanlarının artışı, cinsel davranışlardaki değişiklikler, kondom dışı doğum kontrol yöntemlerinin kullanımındaki artış, tanı ve tedavi imkanlarının gelişmesiyle hastalıkların daha doğru ve sık olarak tespit ediliyor olması, antibiyotiklere direnç nedeniyle tedavide rastlanan zorluklar olarak tespit edilmiştir (3, 4).

Enfeksiyon belirti ve bulgusu olmasa da hızlı ve doğru tanı koymak, hem hastayı hem de cinsel eşini tedavi etmek çok önemlidir. Bu şekilde erken tanı ve tedavi ile infertilite, Pelvik Enflamatuvar Hastalık (PEH), ektopik gebelik gibi ciddi komplikasyonlar gelişmeden önce kolayca iyileşme sağlanır [HIV, Herpes simplex virus (HSV) vb. hariç] ve enfeksiyonların toplumda yayılması önlenir.

Dünyada CYBE için çok çeşitli tanı yöntemleri uygulanabilmektedir. Önemli olan kullanılan yöntemin; duyarlı, özgül, hızlı, pratik ve güvenilir olmasıdır. Maliyet yarar/zarar analizleri yapıldığında CYBE'nin ülkelere getirdiği ekonomik yük oldukça fazladır. Koruma ve kontrol programları doğru uygulandığında maliyet yükü minimuma düşmektedir.

Çalışmamızda; cinsel yolla bulaşan enfeksiyon etkenleri içinde dünyada da sık karşılaşılan ve önemli sayılan *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Mycoplasma genitalium*, *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*, ve *Trichomonas vaginalis*'in tanımlanmasında kullanılan, konvansiyonel yöntemler ve yeni bir yöntem olan DPOTM(Dual priming oligonükleotid) tabanlı multipleks PCR yönteminin karşılaştırılması amaçlanmıştır. Tek bir örnekle aynı anda altı farklı enfeksiyon etkeninin tanımlanmasına olanak sağlayan ve bu nedenle konvansiyonel yöntemlere göre daha hızlı tanı koyduran ve daha kolay uygulanan bu testin klasik yöntemler ile uyumunun değerlendirilmesi, duyarlılık, özgüllük ve prediktif değerlerinin saptanması öngörülmüştür. Ayrıca bu yöntemin, non-invaziv olarak elde edilen idrar örneklerinde de benzer çalışmanın yapılmasına olanak tanınması sebebi ile invaziv servikal/üretral örneklerle alınan sonuçların karşılaştırılması da hedeflenmiştir. Aynı zamanda çalışılan popülasyonda, enfeksiyonlarla ilgili risk faktörlerinin de değerlendirilmesi planlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. CYBE toplum için neden önemli?

Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ) 2008 yılı tahminlerine göre, her yıl dünya genelinde 15-49 yetişkin yaş grubu aralığında 499 milyon yeni, tedavi edilebilir CYBE (sifiliz, gonore, klamidy ve trikomoniyaz) vakası ortaya çıkmaktadır. Bu sayıya dünya çapında birey ve toplumların hayatlarını olumsuz etkilemeye devam eden HIV ve diğer cinsel yolla bulaşan hastalıklar dahil değildir (1).

Gelişmekte olan ülkelerde, CYBE ve komplikasyonları, yetişkin sağlık hizmetlerinde en sık rastlanan ilk 5 hastalık kategorisi içinde yer almaktadır. Tedavi edilebilmesine rağmen bazı enfeksiyonların asemptomatik olması önemli komplikasyonlara sebep olabilmektedir. Bu komplikasyonlar arasında; kadınlarda kronik pelvik ağrı ve infertilite, yeni doğanlarda körlüğe kadar gidebilen göz enfeksiyonları ve pnömoni, erken doğum, düşük doğum ağırlığı, ölü doğumlar, kadınlarda yaygın enfeksiyon, dış gebelik ve servikal kansere bağlı ölümler, erkeklerde idrar yollarında darlık ve infertilite, psiko-sosyal sonuçlar sayılabilir. Enfeksiyon belirti ve bulgusu olmasa da hızlı ve doğru tanı koymak, hem hastayı hem de cinsel eşini tedavi etmek açısından çok önemlidir (1, 5, 6, 7).

1980'li yılların başında, önce AIDS'in tanımlanması ve ardından HIV'in saptanması, diğer CYBE'a olan ilginin artmasına yol açmıştır. Daha önceleri gerektiği gibi önemsenmeyen gonokok, klamidy, trikomonas, herpes v.b gibi etkenlere bağlı enfeksiyonların HIV'in bulaşmasını artırıcı etkilerinin gözlemlenmesi bu hastalıklara karşı ilgiyi artırmış ve daha da önemlisi, bunların sürveyans ve önlenmelerine ilişkin çalışmaları hızlandırmıştır. CYBE, HIV'in edinilmesini iki-üç kat arttırabilmektedir (1, 5).

Gelişmekte olan ülkelerde toplumun önemli bir bölümünü gençler ve genç erişkinler oluşturur. 20. yüzyılın ikinci yarısından itibaren birçok ülkede; endüstrileşme nedeniyle kırsal bölgelerden kentlere göç ve buna bağlı hızlı kentleşme, hızlı nüfus artışı, savaşlar ve savaşlara bağlı göçler, uluslararası turizmin gelişmesi gibi faktörlerin yanı sıra, toplumların cinsel davranış biçimlerinde değişiklikler olması, bunlara karşı

etkin korunma ve kontrol yöntemlerinin yeterince hayata geçirilememesine, sonuçta CYBE'nin artmasına neden olmuştur (5).

2.2. CYBE'nin sınıflandırılması ve etkenler

CYBE'a neden olan mikroorganizmalar vücuda vajen, serviks, üretra, rektum ve farenks gibi mukoza ile kaplı bölgelerden ya da deri yoluyla (ektoparazitler) bulaşmaktadır. Cinsel yolla bulaşan enfeksiyon etkenleri; bakteriler, virüsler, parazitler ve mantarlar olarak sınıflandırılabilir. CYBE'a sebep olan 30'dan fazla farklı mikroorganizma bilinmektedir (Tablo 2.1). Bu mikroorganizmalar arasında en yaygın olarak bilinenleri, *Neisseria gonorrhoea*, *Chlamydia trachomatis*, *Treponema pallidum*, *Haemophilus ducreyi*, *Klebsiella granulomatis*, *HIV*, *Human papillomavirus (HPV)*, *Herpes simplex virus (HSV)*, *Hepatitis B virus*, *Cytomegalovirus*, *Candida albicans* olarak sayılabilir. Cinsel yolla bulaşan hastalıklar birçok ülkede gözlenmektedir ve bildirimleri zorunludur (1, 6, 8, 9).

Tablo 2.1. Cinsel Yolla Bulaşan Bazı Enfeksiyon Etkenleri (1, 6, 8)

Bakteriler	Virüsler	Parazitler	Mantarlar
<i>Neisseria gonorrhoea</i> <i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>HIV (tip 1 ve 2)</i> <i>Herpes simplex virus (tip 1 ve 2)</i>	Protozoonlar <i>Trichomonas vaginalis</i>	<i>Candida albicans</i> <i>Epidermophyton floccosum</i>
<i>Treponema pallidum</i>	<i>Human papillomavirus (HPV)</i>	<i>Entamoeba histolytica</i>	<i>Microsporum</i> 'lar
<i>Haemophilus ducreyi</i>	<i>Hepatit virus A,B,C,D</i>	<i>Giardia intestinalis</i>	<i>Trichophyton</i> 'lar
<i>Klebsiella granulomatis</i> ¹	<i>Cytomegalovirus</i>	Helmintler	
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	<i>Epstein-barr virus</i>	<i>Enterobius vermicularis</i>	
<i>Mycoplasma hominis</i>	<i>Molluscum contagiosum virus</i>	<i>Strongyloides stercoralis</i>	
<i>Mycoplasma genitalium</i>	<i>Enterovirus</i>	Ektoparazitler	
<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Adenovirus</i>	<i>Phthirus pubis</i>	
<i>Salmonella spp.</i>		<i>Sarcoptes scabiei</i>	
<i>Shigella spp.</i>		<i>Pediculus humanus</i>	
<i>Campylobacter spp.</i>			
<i>B grubu streptokoklar</i>			
<i>Mobiluncus spp.</i>			

(1) Önceden *Calymmatobacterium granulomatis* olarak biliniyordu.

Bazı CYBE için bulaş yolları arasında, hamilelik ve doğum sırasında anneden bebeğe geçiş, kan yolu veya doku transfüzyonu ile geçiş de görülebilmektedir (1).

2.3. CYBE’nin epidemiyolojisi

2.3.1. Dünyada Durum

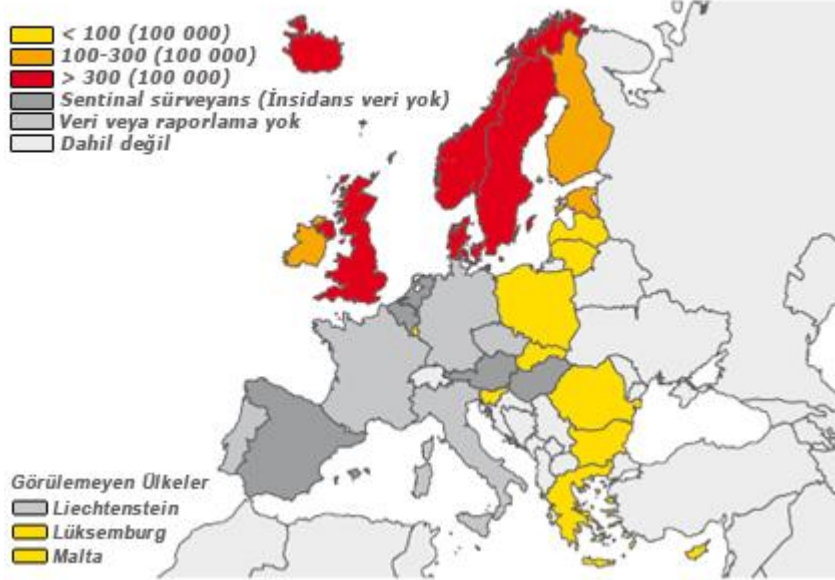
CYBE tüm dünyada yaygındır ve cinsel ilişki tek yol olmasa da en önemli yayılım yolu olmuştur. CYBE’nin oluşumunda rol oynayan biyolojik ve sosyal faktörler, klinik ve laboratuvar tanılarındaki yaşanan güçlükler nedeniyle önlenme ve kontrol programlarında zorluklar yaşanmakta ve tüm dünyada gizli bir epidemi yaparak yayıldıkları düşünülmektedir (6, 9, 10).

Dünyada, 1995 yılında yaklaşık 333 milyon, 1999 yılında 340 milyon, 2000’li yıllarda ise 350 milyon yeni CYBE olgusu bildirilmiştir. Bunlar sıklık sırasına göre *Trichomonas vaginalis*, *Chlamydia trachomatis*, gonore, HIV ve sifiliz olguları olup, %75-85’i gelişmekte olan ülkelerden rapor edilmiştir. 1980’li yıllardan sonra Doğu Avrupa ve Sovyet Sosyalist Cumhuriyetler Birliğinin yapısının değişmesi sonucu gelişen sosyoekonomik nedenler yüzünden birçok insan Türkiye ve Güney Avrupa’nın birçok ülkesine seyahat etmiştir. Seyahatler CYBE etkenlerinin yayılmasına neden olmuştur. Örneğin; Afrika’da CYBE % 3,4-65, Brezilya’da %21, Güney Asya’da %14 olarak saptanmıştır (9).

CYBE’nin epidemiyolojik özellikleri toplumdan topluma hatta aynı toplumda gruplar arasında farklılıklar gösterebilmektedir. Ancak olguların belirlenmesi ve tedavilerinde benzer sorunlar yaşanmaktadır. Hastalıkların çoğu belirti ve bulgu vermeksizin seyrettiği için kişilerin belirlenmesi ve hastalık sıklığının saptanması zordur (6).

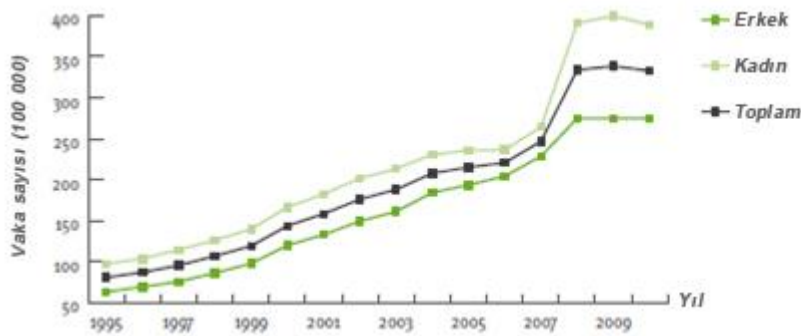
2010 yılında Avrupa’da, “European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC)” sürveyans raporuna göre, 32.028 gonore vakası, 17.884 sifiliz vakası, 345.421 klamidyaya vakası rapor edilmiştir (11). Bu rapora göre, Avrupa’da klamidyaya enfeksiyonları en sık görülen CYBE olarak belirtilmiştir (Şekil 2.1). Klamidyaya enfeksiyonları kadınlarda erkeklere göre daha sık rapor edilmiştir. Rapor edilen tüm

vakaların %75'i 15-24 yaş grubundayken, en yüksek oran 15-19 yaş grubundaki kadınlarda görülmüştür.



Şekil 2.1. Avrupa’da klamidy vaka sayıları, 2010. Kaynak 11’den uyarlanmıştır.

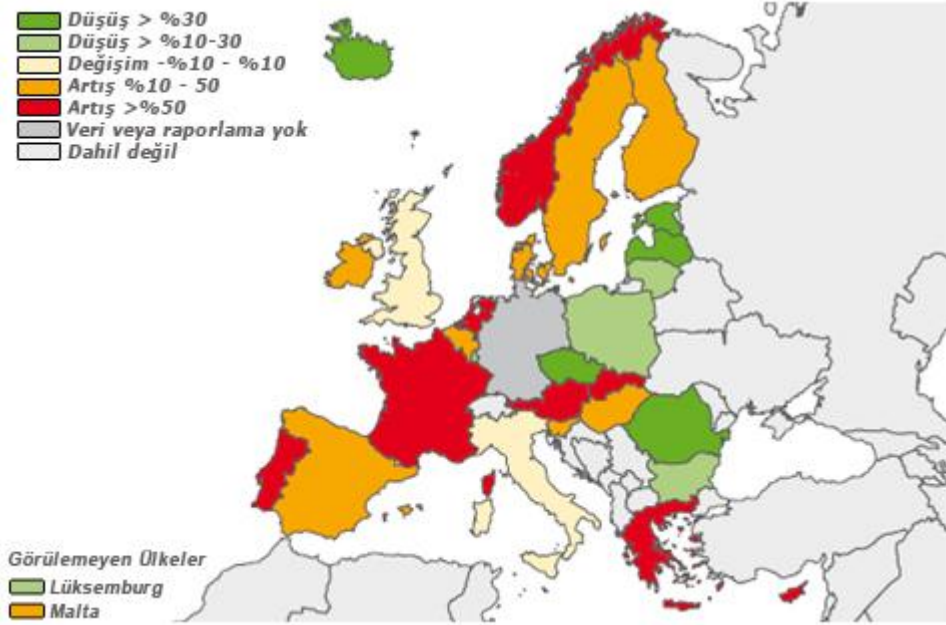
Birçok Avrupa ülkesinde, klamidy vaka sayılarındaki zaman içindeki eğilim, genel bir artış olarak izlenmektedir (Şekil 2.2) (11).



Şekil 2.2. 1995-2010 yılları arasında Avrupa’da raporlanan klamidy vakalarının eğilimi. Kaynak 11’den uyarlanmıştır.

2010 yılında, Avrupa’da rapor edilen erkek gonore vakaları ise kadınlara göre 3 kat fazla olarak gözlenmiştir. Tüm gonore vakalarının %26’sını ise homoseksüel

erkekler oluşturmaktadır. Son üç yılda Kıbrıs, Finlandiya, İrlanda, Portekiz, Norveç ve İsveç'te artış eğilimi gözlenirken, diğer ülkelerde vakaların azaldığı ya da sabit kaldığı görülmüştür. Bu eğilimlerin, raporlama ve sağlık sistemlerinin farklılığı nedeniyle dikkatle yorumlanması gerektiği belirtilmektedir (Şekil 2.3) (11).



Şekil 2.3. 2006-2010 yılları arasında Avrupa’da raporlanan gonore vaka sayısındaki rölatif değişiklik. Kaynak 11’den uyarlanmıştır.

Colson ve arkadaşları, Fransa’daki laboratuvarlarında “Gerçek Zamanlı Sistematik Takip Sistemi (Real Time Systematic Monitoring)” sayesinde, Eylül-Aralık 2012 tarihleri arasında gonore vakalarında 10 kat artış olduğunu fark etmişlerdir. Sonrasında, sifiliz ve HIV için yaptıkları araştırmada da sırasıyla 2.7 ve 1.8 kat artış tespit etmişlerdir (12). Benzer şekilde Savage ve arkadaşları İngiltere’de 2011 yılında genel toplumda gonore ve sifiliz vakalarında sırasıyla %25 ve %10 oranında artış bildirmiştir. Bu artış homoseksüel erkekler arasında oldukça fazla oranda (%65) bildirilmiştir. Bildirilen bu vakaların %42’si 25-34 yaş aralığında bulunmuştur (13).

ABD’ de ise 2011 yılında CDC’ ye, 1.412.791 klamidya vakası rapor edilmiştir. Bu sayı önceki yıl ile karşılaştırıldığında %8’lik bir artışa işaret etmektedir. Kadınların

erkeklerle göre 2.5 kattan fazla klamidy enfeksiyonu geçirmiş olduğu açıklanmıştır. Ancak, idrar ile yapılan klamidy tanı testlerinin artmasından dolayı erkeklerde de klamidy enfeksiyon hızı 2007-2011 yılları arasında %36.2 artmıştır (10).

ABD’de 2011 yılında bildirilen gonore enfeksiyonları ise 321.849 vaka ile %4 oranında artış göstermiştir. Önceden erkek kadın oranı birbirine yakın iken, 2011’de kadın vakaları erkeklerle göre daha fazla gözlenmiştir. Gonore, kadınlarda 15-24 yaş grubunda en yüksek oranda saptanırken, erkeklerde ise en yüksek oran 20-24 yaş grubunda saptanmıştır (10).

ABD’de *Trichomonas* enfeksiyon eğilimini görmek için veriler sınırlıdır. Sutton ve arkadaşlarının yaptığı bir prevalans çalışmasında, 2001-2004 yılları arasında 14-49 yaş grubunda 3754 kadından alınan örnekler PCR ile çalışılmış ve prevalans %3,1 olarak bulunmuştur. En yüksek prevalans %13,3 ile siyah kadınlarda bildirilmiştir (14).

2.3.2. Türkiye’de Durum

Ülkemizde, özellikle CYBE’lara ilişkin kayıt ve bildirimlerin doğru, zamanında ve eksiksiz yapılamaması nedeniyle ülke verilerimiz kısıtlıdır. Oysa ki, hastalıklardan korunma ve bu konuda ulusal sağlık politikalarının oluşturulmasında, hastalıklar hakkında elde edilecek güvenilir verilerin önemi tartışılmazdır (15).

CYBE’nin zamanında ve doğru biçimde bildirilmesi morbidite ve kısıtlı kaynaklar açısından çok önemlidir. Ülkemizde, 2005 yılında güncellenen bildirim sistemine göre; grup A hastalıklar içinde sınıflanan HIV enfeksiyonu ve AIDS ile gonore ve sifilizin günlük olarak, grup D hastalıklar içerisinde yer alan *C. trachomatis*’in ise haftalık olarak bildirilmesi gerekmektedir (16).

Ülkemizde, HIV/AIDS dışı CYBE’nin giderek artış gösterdiği bir ortamda dikkat ve olanaklar çoğunlukla HIV enfeksiyonuna yöneltilmekte, diğer CYBE göreceli olarak göz ardı edilmektedir. CYBE’nin önlenmesi doğrultusunda uygulanabilir bir ulusal korunma ve kontrol programının olmayışı da ülkemiz açısından olumsuz bir durumdur (5). *Chlamydia trachomatis* ve *Neisseria gonorrhoeae*’ye bağlı genital enfeksiyonların ülkemizdeki dağılımını kesin olarak bilmek mümkün değildir. Bunun sebebi, yapılan çalışmaların belirli gruplarda ve bölgesel olarak gerçekleştirilmiş olmasıdır (5).

Ülkemizde CYBE'nin prevalansını gösteren çalışmalar az sayıdadır (6). Ağaçfıdan ve ark.'nın çalışmasında üretriti olan 813 erkek hastada *C.trachomatis* prevalansı %15,7, 192 erkek hastada *N.gonorrhoeae* prevalansı %9,4 olarak bildirilmiştir (17). Ortaylı ve ark.'nın aile planlaması kliniğine başvuran 569 kadında yaptıkları çalışmada *C. trachomatis* prevalansı %1,9, *T. vaginalis* prevalansı %2,6 olarak bildirilirken hiç *N. gonorrhoeae* saptanmamıştır (18).

Türkiye'de, semptomlu hastalarda (hasta sayısı 50 ile 162 arasında değişen) *C.trachomatis*'in araştırıldığı yayınlarda pozitiflik oranı, kadınlarda %2,1 ile %25, erkeklerde %10 ile %23 arasında değişmektedir (19). İstanbul'da yapılan bir çalışmada üroloji polikliniğine bir yılda başvuran 134 üretrit ön tanılı erkek hastanın %34'ünde üreaplazma ve/veya mikoplazma üremesi saptanmıştır. Örneklerin %22'sinde yalnız *U. urealyticum*, %10'unda her iki mikroorganizma birlikte üremiştir. Sadece 2 hastada yalnız *M.hominis* üretilmiştir (20). Sarsar ve ark. üriner sistem enfeksiyonu şüphesi olan ve steril piyuri tespit edilen 60 kadın ile sağlıklı 40 kadından toplanan idrar örneklerinde kültür ve polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemiyle *M. hominis* ve *U. urealyticum*'un sıklığını araştırmışlardır. Steril piyüri grubunda *U.urealyticum*'a %50, *M. hominis*'e %6,6 oranında, sağlıklı grupta ise *U. urealyticum*'a %32,5, *M. hominis*'e %5 oranında rastlanmıştır (21). Bilir ve ark. 2004-2009 yılları arasında, ürogenital enfeksiyon şüphesi olan 1788 hastadan alınan vajinal akıntı, sperm ve üretral akıntı örneğinde, %4,5 mikoplazma-üreaplazma üremesi saptamıştır. Pozitiflik saptanan örneklerin %65'inde sadece *Ureaplasma urealyticum*, %9,8'inde *Mycoplasma hominis*, %25'inde iki mikroorganizmanın birlikte ürediği bildirilmiştir (22). Adiloğlu ve ark.'nın Ankara'da yaptığı bir çalışmada, semptomatik 150 kadın hasta ve 119 kadın seks işçisi olmak üzere toplam 269 kadın hastadan %12,6 oranında *T. vaginalis* izole etmişlerdir. Pozitif vakaların %10,66'sı tek eşli kadınlardan, %15,12'si çok eşli kadınlardan izole edilmiştir (23). Hatay'da yapılan bir çalışmada, vajinal akıntı ve kaşıntı şikayeti olan 275 kadından toplanan örneklerde %2,18 oranında *T. vaginalis* saptandığı bildirilmiştir (24). Manisa'da yapılan bir çalışmada ise, vajinal akıntı ve vulva kaşıntısı yakınması ile başvuran, yaş aralığı 17-63 olan 233 vajinitli hastanın 11'inde (%4,7) *T. vaginalis* saptanmıştır (25).

2.4. CYBE’ın risk faktörleri ve sosyoekonomik sonuçları

CYBE’ın toplum sağlığı açısından, özellikle de riskli davranışları olan bireylerin ve grupların arasında hızla yayılımının ciddi boyutlara ulaşmasının nedenleri oldukça fazladır. Bunlar arasında; cinsel olgunlaşma yaşının erkene kayması, cinsel özgürlük anlayışında değişim, doğum kontrol yöntemlerinin seçiminde ve kullanımında bilinçsizlik, kondom dışı doğum kontrol yöntemlerinin kullanımında artış, göç olayları, gelişmekte olan ülkelerde cinsel eğitim programlarının yetersizliği, evlilik öncesi cinsel ilişki ve cinsel eş sayısındaki artış, antibiyotiklere direnç nedeniyle tedavide rastlanan zorluklar sayılabilmektedir (15, 26).

CYBE; sosyokültürel ve eğitim düzeyi düşük, birden fazla cinsel eşi olan erkek ve kadınlarda, ilaç bağımlılığı olanlarda, seks çalışanlarında, önceden geçirilmiş CYBE öyküsü olanlarda, herhangi bir doğum kontrol yöntemi uygulamayanlarda ve oral kontraseptif kullanan kadınlarda daha sık görülmektedir (6, 9).

CYBE’ın kişiden kişiye geçişinde birinci sorumlu yol cinsel ilişkidir. Ancak geçiş riskini artıran davranış biçimleri vardır ve riskli davranışlar olarak adlandırılmaktadır (4,7). Riskli cinsel davranışlar; erken yaşta ilişkiye başlama, cinsel eş sayısı, birden fazla cinsel eşe sahip olmak, cinsel eşin birden fazla cinsel eşinin olması, sık sık eş değiştirmek, yeni bir eşle birlikte olmak, kuşkulu kişilerle ilişkide bulunmak, rastgele ilişkiye girme, özel cinsel tercihlerin olması, son bir yıl içinde geçirilmiş CYBE öyküsüne sahip olmak olarak bilinmektedir (4, 7, 27).

Cinsel davranışların yanı sıra kondom kullanmama, hastalık belirtisi varken ilişkide bulunma, tanı ve tedavide gecikme, tedaviye uymama, eşin tedavi olmaması gibi riskli sağlık davranışlarına sahip olanların da CYBE’a yakalanma riski yüksektir. Bu faktörler dışında; genç yaş, kadın olmak, sünnetli olmamak gibi bazı biyolojik faktörlerle, büyük şehirde yaşamak, sigara, alkol, ilaç bağımlısı olma gibi bazı özelliklerin CYBE’a yakalanma sıklığı ile birlikte görülen özellikler olduğu belirlenmiştir (27, 28).

Üç önemli faktör kadınları CYBE’ya daha duyarlı hale getirmektedir. Bunlar; vajinada geniş mukozal yüzeyin varlığı, genç kadınlarda servikal ektopinin varlığı, toplumsal cinsiyet /ayrımcılığı (sosyal faktörler) olarak belirtilmektedir (4, 7, 27).

Özel önem verilmesi gereken gruplar ya da bir diğer ifade ile başlıca risk grupları; gençler, cinsel bakımdan aktif genç kızlar, birden fazla cinsel eşi olan erkek ve kadınlar, seks işçileri ve müşterileri, işleri nedeniyle eşlerinden uzun süre ayrı kalmak zorunda olan kişiler, sokak çocukları, madde bağımlıları, mahkumlar ve bu kişilerin eşleridir (6, 7).

CYBE’nin topluma sosyal ve ekonomik yükü oldukça fazladır. Bazı ülkeler halk sağlığı için ayrılan toplam bütçeden daha fazlasını HIV tedavisi için harcayabilmektedirler (29). CYBE epidemilerinin kontrol edilemediği durumlarda ulusal gelirden CYBE’ı tedavi etmeye yönelik harcamaların daha da arttığı bildirilmektedir (7, 29). Özellikle gelişmekte olan ülkelerde CYBE ekonomik kayıpların %17’sinden sorumludur (30).

2.5. CYBE’nin komplikasyonları

CYBE sadece yetişkinlerde akut hastalıklara sebep olmaz, aynı zamanda kadın ve erkekte infertilite, kadınlarda ektopik gebelik, servikal kanser ve düşüklerle neden olurken, yenidoğanda düşük doğum ağırlığı, prematürite, prematür mortalitesi, konjenital sifiliz ve oftalmi neonatorum gibi komplikasyonlara neden olabilmektedir (1, 30).

Kadınlarda, CYBE etkenlerinin alt genital organlardan üst genital organlara yayılması sonucu; pelvik enfeksiyon (uterus, fallop tüpleri ve over enfeksiyonları, pelvis yapışıklıkları), kronik pelvik ağrı ve infertilite gelişebilmektedir. Pelvik enfeksiyondan sorumlu tutulan enfeksiyon etkenlerinin başında *C. trachomatis* ve *N. gonorrhoeae* gelmektedir (6, 7). Tedavi edilmemiş klamidya enfeksiyonu olan kadınların %10-15 kadarı PEH ile sonuçlanmaktadır ve klinik PEH vakalarının yaklaşık % 10-15’i tubal infertiliteye sebep olmaktadır. PEH geçirmiş kadınlarda ektopik gebelik gelişme riski 6-10 kat artmıştır ve ektopik gebeliklerin %40-50’si önceden geçirilen PEH’a bağlı olabilmektedir (1).

Gonore ve klamidy enfeksiyonları, erkeklerde de üretradan epididime yayılarak üretrit ve epididimite neden olmaktadır. Uygun tedavi edilmezse üretral darlık ve infertilite gelişebilmektedir (7).

2.6. CYBE’in tedavisi ve direnç

DSÖ özellikle birinci basamak sağlık hizmetlerinde kullanılmak üzere sendromik yaklaşım esasına dayanarak CYBE’in tanı ve tedavisine yönelik akış şemaları geliştirmiştir. Bu şemalar sıklıkla asemptomatik seyreden bu hastalıkların tanısında kısmen yeterli olabilmekte; klinik problem, klinik tanı ve yapılması gerekenler olmak üzere üç aşamadan oluşmaktadır (6).

CYBE’a sendromik yaklaşım; birbiriyle bağlantılı semptomatik grupların tanımlanması, kolaylıkla tanınan semptomların belirlenmesi, bir sendromun ortaya çıkmasından sorumlu olabilecek patojenlerin birden fazlasını kapsayan tedavilerin uygulanması şeklindeki yaklaşımları içermektedir. DSÖ, mümkün olan yerlerde tek doz tedavinin kullanılmasını önermektedir (7).

DSÖ’ye göre bu sendromik yaklaşım, uygulanabilir ve hızlı etkin bir tedavi sunmaktadır. Aynı zamanda bazı sendromlar için kullanılan laboratuvar testlerinden daha maliyet etkin olduğu belirtilmektedir (1, 6). Bununla birlikte, Mayıs 2013’te DSÖ, halen uygulanmakta olan sendromik algoritmaların, bazı sendromlar için bu yaklaşımın tam olarak uygulanmadığını ayrıca asemptomatik CYBE’in da göz ardı edildiğini belirtmiştir. Bu yüzden DSÖ; gelişmekte olan ülkelerde, kontrol ve korunma için, en acil yapılması gerekenlerden birinin, düşük maliyetli, kesinliği yüksek olan hızlı tanı testleri olduğunu vurgulamaktadır (1).

N. gonorrhoeae ve *C. trachomatis* enfeksiyonları %45 vakada bir arada olduğu için bu etkenlerden herhangi birisi düşünüldüğünde her iki patojen için de etkili olabilecek bir tedavinin verilmesi önerilmektedir (6,31). CYBE enfeksiyonu tedavisinde farklı rejimler uygulanmaktadır (6).

Gonore tedavisi, *N. gonorrhoeae*’nin direnç geliştirebilme özelliğinden dolayı komplikedir. Kinolon dirençli *N. gonorrhoeae* suşları artık ABD ve tüm dünyada yaygınlaşmaktadır (31). Nisan 2007 itibarıyla, ABD’de kinolonlar gonore tedavisi ve

sebebi olduğu PEH gibi durumlar için tavsiye edilmemektedir (32). ABD'de sadece sefalosporinler gonore tedavisi için önerilmekte olup seftriakson ve sefiksim karşı direnç oldukça az görölmektedir. Ancak, 2001 yılında çoklu ilaç direncine ve azalmış sefiksim duyarlılığına sahip çeşitli vakalar Hawaii'den bildirilmiştir (33).

Oral sefalosporinlerin kullanımından kaynaklanan tedavi başarısızlıklarının çoğu, Asya ölkelerinden bildirilmiştir (31). *N. gonorrhoeae*'nin sefalosporin ve diğeri antibiyotiklere karşı azalmış duyarlılığının yayılmaya devam etmesinden endişe edilmekte olup; devlet ve yerel sürveyans sistemlerinin, antimikrobiyal direncin izlenmesi ve lokal tedavi önerilerine yol göstermesi açısından önemi vurgulanmaktadır (34).

N. gonorrhoeae sıklıkla *C. trachomatis* ile birlikte koenfeksiyon oluşturduğundan, komplike olmayan *C. trachomatis* enfeksiyonlarına karşı da etkili bir tedavi rejiminin rutin olarak kullanılması önerilmiştir. ABD'de çoğu gonokok enfeksiyonu doksisisiklin ve azitromisin duyarlı olduğu için, rutin kombine (Cotreatment) tedavinin antimikrobiyal dirençli *N. gonorrhoeae* gelişimine engel olmuş olabileceği vurgulanmaktadır (31).

Avrupa'da ise güncel tedavi rehberlerinde tek doz 3. kuşak sefalosporinlerden intramusküler seftriakson veya oral sefiksim önerilmektedir (35). İngiltere ve Avrupa genelinde kullanılan bu ilaçlara karşı azalmış bir duyarlılık gözlenmektedir (36, 37). Son yıllarda, Avrupa'da 3. kuşak sefalosporinlere karşı tedavi başarısızlıkları rapor edilirken, gonore vakalarında artış eğilimi endişe verici olarak değerlendirilmektedir. ECDC son olarak 2012'de dirençli gonore tehdidine karşı, kontrol ve yönetim amaçlı, ilk bölgesel halk sağlığı müdahale planını yayınlamıştır (38). Dirençli suşların Avrupa'da yayılması ile, moleküler tiplendirme gibi ileri araştırma yöntemlerine gereklilik oluştuğu bildirilmektedir (37).

Son yıllarda, yüksek seftriakson dirençli ilk *N. gonorrhoeae* suşu Japonya'da rapor edildikten sonra; Avrupa'da ilk olarak Fransa'da, 2011'de genital kaynaklı, yüksek düzey seftriakson dirençli *N. gonorrhoeae* suşu (F89) tespit edilmiştir (39). Bunu daha sonra İspanya'dan bildirilen şüpheli bir vaka takip etmiştir (38). Bu gelişmelerden sonra, direkt seftriakson dirençli *N. gonorrhoeae* suşunu (F89) taramaya

yönelik, real-time PCR tabanlı bazı moleküler teknolojiler geliştirilmeye başlanmıştır (40).

2.7.CYBE’ın önlenmesi ve kontrolü

CYBE’ın kontrolünde sağlıklı cinsel davranış biçimlerinin desteklenmesi, riskli davranışları olan kişilerin tarama testleriyle taranması, bir CYBE etkeni saptandığında diğer etkenlerin aranması ve eşlerin de tedavisi son derece önem taşımaktadır (41).

CYBE’ın kontrolünün dört temel bileşeni bulunmaktadır. Bunlar; bulaş riskini azaltmak amacıyla risk altındaki kişilerin hastalığın bulaş yolları konusunda eğitimi, asemptomatik vakaların ve semptomatik olup da tanı ve tedaviden yararlanmayan vakaların saptanması, tedavi olmak isteyen enfekte kişilerin etkin tedavisi, enfekte kişilerin cinsel eş/eşlerinin tedavisi ve eğitimi olarak sayılmaktadır (7, 31).

Aşı ile önlenebilen bazı CYBE etkenlerinin arasında Hepatit A virusu (HAV) Hepatit B virusu (HBV) ve HPV bulunmaktadır. Bu etkenler için aşılar etkin ve yaygın olarak kullanılabilir. HIV ve HSV gibi diğer bazı etkenler için aşıların geliştirilmesi sürmekte veya klinik çalışmaları devam etmektedir (31).

Asemptomatik enfekte kişilerin saptanması için risk altındaki kişilere tarama testlerinin yapılması gerekmektedir. CDC’ye göre, 25 yaş ve altındaki korunmasız cinsel aktif tüm genç kadınlar yıllık olarak *C. trachomatis* açısından taranmalıdır. *C. trachomatis* açısından rutin tarama genç erkeklerde önerilmemekte, bununla birlikte yüksek klamidya prevalansı olan yerlerde dikkate alınması gerektiği belirtilmektedir. Tarama, gonore ve HIV enfeksiyonlarının kontrolünde de esas rolü oynamaktadır. ABD’de risk altındaki tüm cinsel aktif kadınlara gonore taraması önerilmektedir (31, 42). Pratik tarama kriterlerinin belirlenmesinde toplumdaki CYBE’ın epidemiyolojisi, maliyet, testin verimliliği, beklenen sonuç, vaka saptanmasının halk sağlığı üzerine olası etkisi ve komplikasyonların sıklığı gibi faktörler değerlendirilir (42).

2.8. Önemli CYBE etkenleri ve tanı yöntemleri

2.8.1. *N. gonorrhoeae* ve laboratuvar tanısında kullanılan yöntemler

N. gonorrhoeae Neisseriaceae ailesine ait, intra ya da ekstrasellular yerleşimli, gram negatif diplokok şeklinde, oksidaz ve katalaz pozitif, sporsuz, hareketsiz bakterilerdir. Tipik olarak kahve çekirdeği şeklinde görülmektedirler. Glukoz oksidasyonu ile asit üretebilirken, maltoz, sükroz, laktoz oksidasyonu yapamazlar (43, 44). Kadınlarda primer endoservikal kolumnar epitel hücrelerini enfekte ederken, erkeklerde primer enfeksiyon üretrada sınırlıdır. Genital sistemde kolumnar epitele, yüzey yapıları olan pilus ya da opasite proteinleri (Opa) ile tutunup bazal membranda çoğaldıktan sonra submukozaya geçerek akut enflamatuvar yanıtı yol açmaktadırlar. Lipooligosakkarit (LOS) yapısı ve endotoksik etki göstermesi yaygın enfeksiyonlarda görülen sistemik toksik tabloda sorumlu tutulmaktadır (43, 44, 45). Hastalığın enfekte kadından erkeğe bulaşma riski tek bir ilişkide yaklaşık olarak %20 iken, erkekten kadına bulaşma durumunda ise bu risk yaklaşık olarak %50-70'e ulaşmaktadır (44). Erkeklerde, akut gonokoksik üretrit, dizüri ve mukopürülan üretral akıntı ana semptomlardır. Kadında ise servisit veya üretrit olgularında, normal veya mukopürülan akıntı, ara kanamalar, dizüri ve menoraji görülebilen semptomlardır. Servisitte bazen eşlik eden hiperemik görünüm ve endoservikse dokunmakla kanama görülmektedir. Kadında asemptomatik enfeksiyon oranı %50 iken, erkeklerde bu oran %10 kadardır. Rektal ve faringeal enfeksiyonlar genellikle asemptomatik seyir göstermektedir (35).

N. gonorrhoeae Laboratuvar Tanısı: Gonorenin erken tanısı, klinik örneklerde, gram negatif diplokokların mikroskopide görülmesi ile konulmaktadır. Gram veya metilen mavisi boyaları ile boyanan klinik örneklerde, nötrofillerin içinde ve dışında bol miktarda gram negatif diplokoklar halinde görülürler (44, 45). Gram veya metilen mavisi boyalarının duyarlılığı ve özgüllüğü semptomatik üretriti olan erkeklerde %95 ve üzerindedir. Ancak, asemptomatik erkeklerde mikroskopinin duyarlılığı %55 ve altındadır, kadınlarda, endoservikal örneklerde duyarlılık yine %55 ve altındadır, aynı şekilde rektal örneklerde duyarlılık %40 ve altındadır olduğundan, bu durumlarda mikroskopinin tanıda kullanılmaması, kesin tanı amacıyla kültür yönteminin kullanılması önerilmektedir (6, 35). Kültür mikroorganizmanın izole edilerek duyarlılık testinin yapılmasına olanak sağlamaktadır. Gonokoksik servisit tanısında mikroskopinin düşük

duyarlılığı, kültür ile %90'a ulaşmaktadır (6). Kùltürler, dakron ya da rayon uçlu eküvyonlarla toplanmalıdır. Gonokoklarda kalsiyum aljinat toksik olabildiğı gibi bazı markalara ait pamuklu eküvyonlarda bulunan yağ asitleri gonokoklarda inhibitör etki yapabilir. Bu tip eküvyonlar, doğrudan ekim yapıldığı zaman ya da eküvyon Stuart ya da Amies gibi taşıma ortamlarıyla taşındığında kullanılmalıdır. Gonokoklar en iyi, toplandıktan sonra doğrudan besiyerine ekilmiş olan örnekten izole edilmektedir. Ancak bu her zaman uygun ve pratik olmadığından çeşitli taşıma besiyerleri kullanılmaktadır. Taşıma sistemleriyle yollanan sürüntü örneklerinde, bakterinin kuru ve soğuk ortama oldukça dayanıksız olmasından dolayı, canlılığını yitirmemesi için buzdolabına konulmaması ve ilk 6 saat içinde uygun besiyerine ekilmesi gerekmektedir (46). Örneklerin, çikolata veya Thayer Martin gibi zengin ve selektif besiyerlerine ekilmesi önerilmektedir. Zenginleştirilmiş seçici besiyerleri, modifiye Thayer Martin, Martin-Lewis, GC-Lect (BD Biosciences) ve New York City besiyerini içermektedir. Ekilen plaklar, 35-37 ° C'de, %3-7 CO₂'li ortamda inkübe edilmelidir. 24., 48. ve 72. saatlerdeki üreme gözlemlenmelidir. Şüpheli kolonileri tanımlamak için oksidaz ve katalaz testlerini takiben karbonhidrat kullanım testleri uygulanmaktadır. Sistemik enfeksiyonlar için mutlaka kan kültürü yapılması gerektiğı de unutulmamalıdır (44, 45, 46).

Kùltür, *N. gonorrhoeae* tanısı için altın standarttır. Kùltür, ucuz ve oldukça duyarlı, rektal ve faringeal enfeksiyonların tanısında yaygın olarak kullanılan tek onaylanmış tanı testidir. Klinik endikasyon olduğunda veya sürveyans için antimikrobiyal duyarlılık testinin yapılmasını sağlamaktadır. Aynı zamanda, kùltür yaygın olarak sadece adli durumlarda, cinsel tacize uğramış veya şüpheli gonore olan çocuklarda en uygun test olarak kabul edilmektedir.

Bununla birlikte, 'Nùkleik Asit Amplifikasyon Testleri (NAAT)' idrar ve kendi kendine alınan vajinal örneklerdeki yararından dolayı çoğı yerde, kùltüre tercih edilmeye başlanmıştır (44). Nùkleik asit hibridizasyon (DNA probe) ve NAAT [polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), strand-displacement amplifikasyon (SDA), transkripsiyon aracılı amplifikasyon (TMA)] testleri gelişmiş ÷lkelerde kullanıma girmiş duyarlılık ve özgüllükleri yüksek yöntemlerdir (6, 44, 46). Nonamplifiye DNA prob testlerinin, kùltür ve NAAT'ne göre daha düşük duyarlılığa sahip olmasına rağmen

yaygın kullanımı devam etmektedir. Klinik olarak yararlı serolojik bir test bulunmamaktadır (44). NAAT, genel olarak ($\geq$ %90), kültürden daha duyarlı testlerdir ve farklı örnek tiplerinden çalışılabilir. Kadınlarda idrar örneklerinden çalışılan testler, eküvyon ile alınan örneklerle göre düşük duyarlılık gösterdiğinden önerilmemektedir. Buna karşın, endoservikal ve vajen örneklerinde uygulanan NAAT tarama amaçlı olarak yeterli duyarlılığa sahiptir (%90) (35).

Son yıllarda, Avrupa’da NAAT, tanıda kültürün yerini almıştır. NAAT daha duyarlı ve hızlı olmasına rağmen mikroorganizmanın izolasyon gerekliliğinin ortadan kalkması nedeniyle laboratuvarlarda kültür ve antibiyotik duyarlılık testlerinin uygulanmasında bir azalmaya, dolayısıyla *N. gonorrhoeae* kökenlerinin izole edilememesine ve buna bağlı olarak da bu çalışmalardan elde edilen özelliklere ait veri kaybına neden olmuştur. Bu durum, dirençli *N. gonorrhoeae* suşlarında alternatif tedavi seçimini sınırlayacağından önemli bir durum olarak değerlendirilmektedir (38).

2.8.2. *C. trachomatis* ve laboratuvar tanısında kullanılan yöntemler

C. trachomatis, Chlamydiaceae ailesine ait, zorunlu hücre içi bakterilerdir. *Chlamydia trachomatis* hücre duvarında bulunan major dış zar proteinin (MOMP) antijenik reaktivitesine göre 18 serovara ayrılmıştır. Serovar A, B, B_a ve C trahoma, serovar D’den K’ya kadar D_a ve I_a ve Ja’da dahil olmak üzere genital enfeksiyonlara, serovar L1, L2, L2a, L2b, L3 daha invaziv cinsel yolla bulaşan bir enfeksiyon olan “Lenfoganüloma Venorum”a sebep olmaktadır (47). Kadınlarda, endoserviks ve üst genital sistemin skuamokolumnar epitelini, erkek ve kadınlarda ise konjunktiva, üretra ve rektumu enfekte ederler. Erkeklerde epididim ve prostat enfeksiyonlarına sebep olabilmektedirler (48). Yaşam sikluslarında elementer cisimcik (EB) ve retiküler cisimcikler (RB) olmak üzere iki şekilde bulunmaktadır. Klamidyaların EB’leri, ökaryotik hücreleri enfekte ederler ve konak hücresi dışında çok kısa bir süre canlı kalabilmektedirler. Hücre içine girdiklerinde metabolik olarak aktif olan ve ortadan ikiye ayrılarak bölünen RB’e dönüşmektedirler. Klamidyaların yaşam sikluslarının sonunda retiküler cisimcikler yine EB’lere dönüşmektedirler (47, 48). Kadınlarda asemptomatik enfeksiyonlar %75’leri bulurken, erkeklerde bu oran %50’dir. Nongonokosik üretritlerin %30-50 oranında *C. trachomatis*’ten dolayı olduğu düşünülmektedir (49). Kadınlardaki servisit semptomları olarak; mukopürülan

endoservikal akıntı, endoserviksin kolayca kanaması, üretrit semptomları olarak piyuri, dizüri, sık idrara çıkma görülmektedir. Eğer üst genital sistemde akut PEH gelişmişse, abdominal ve/veya pelvik ağrı, muayenede servikal hassasiyet görülmektedir. Erkeklerde tipik üretrit semptomları olarak, mukoid veya sulu üretral akıntı ve dizüri gözlenmektedir. Eğer nadir olarak epididimit geliştirse, tek taraflı testis ağrısı, hassasiyeti ve şişliği oluşmaktadır (50).

C. trachomatis Laboratuvar Tanısı: Kadında idrar, vajen ya da serviksten alınan sürüntü örnekleri ile tanı konulurken, erkekte üretral sürüntü örnekleri ya da idrar örneği ile tanı konulabilmektedir. Rektal sürüntü örneği, rektal klamidy enfeksiyonu olan anal cinsel ilişkide bulunan kişilerde kullanılabilir. NAAT, hücre kültürü, direkt floresan antikor (DFA), Enzyme immunoassay (EIA) ve nükleik asit hibridizasyon testleri, endoservikal ve üretral sürüntü örneklerinde *C. trachomatis* tespiti için kullanılabilir (51). NAAT 1993'ten beri kullanılan ve hızla büyük laboratuvarlara adapte olan kültür tabanlı olmayan en yeni jenerasyon testlerdir (52). Yaygın olarak kullanılan yüksek duyarlılığa sahip NAAT'i arasında, PCR, strand-displacement amplifikasyon (SDA), transkripsiyon aracılı amplifikasyon (TMA), ligaz zincir reaksiyonu (LCR) testleri bulunmaktadır (47, 49). Daha yüksek duyarlılıklarından dolayı, NAAT tercih edilir (49, 51). Çok çeşitli ticari NAAT mevcuttur. Örneğin; *C. trachomatis* ve *N. gonorrhoeae* için COBAS Amplicor CT/NG testi (Roche Diagnostics, USA) PCR teknolojisini kullanan bir testtir, aynı etkenler için SDA testi de (BD ProbeTec ET, Amerika) mevcuttur. Her iki testte FDA onayı almıştır (52, 53, 54). Sürüntü örnekleri için ve idrar için US Food and Drug Administration (FDA) tarafından onaylı NAAT'leri, tanı için kullanılan en duyarlı testlerdir. NAAT ve nükleik asit hibridizasyon testleri dahil birçok testin, rektal veya orofaringeal sürüntü örneklerinden kullanımı FDA onaylı değildir. Bununla beraber NAAT, hasta tarafından kendi kendine alınan vajinal sürüntü örneklerinde de en az FDA onaylı testler kadar yüksek performans göstermektedir (49, 51). Seegene firması da, son yıllarda DPO™ olarak adlandırdığı yeni bir oligo teknolojisi kavramı geliştirmiştir. Bu teknoloji primer dizaynında ve PCR optimizasyonunda esneklik sağlamaktadır. Aynı zamanda, spesifik olmayan primer bağlanmalarını önleyerek PCR'ın duyarlılığını ve özgüllüğünü en üst düzeye çıkarmaktadır (54, 55). Klamidy enfeksiyonlarının tanısında DFA ve Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) yöntemleri de yaygın olarak kullanılmaktadır (6).

DFA, tüm örnekler ile çalışılabilen fakat daha düşük duyarlılığa sahip ve göreceli olarak daha emek yoğun bir testtir. EIA bazlı testler, tüm örneklerde çalışılabilen, ucuz maliyetli fakat NAAT ile karşılaştırıldığında, daha az duyarlı testlerdir. Hızlı testler hastanın tanı konulan yerde tedavisini sağlar, fakat pahalı testlerdir ve klinik uygulamada büyük hacimli hızlı testlerin kullanımı için uygun değildir. Aynı zamanda, NAAT'den daha düşük duyarlılığa sahiptirler. Hücre kültürü, özgüllüğü yüksek, fakat %60-80 oranlarında, düşük duyarlılığa sahip olan bir testtir. Göreceli olarak, kültür bazlı olmayan testlere göre daha pahalı ve teknik olarak uygulanması daha zordur (49).

Eküvyonla alınacak örnekler için dakron uçlu alüminyum veya plastik eküvyon kullanılmalıdır. Kalsiyum aljinat uçlu veya tahta çubuklu eküvyonlar üremeyi inhibe edebilmektedirler. Her ticari test için, üretici firmanın talimatlarına uygun hareket edilmelidir (47).

İntraüretral bölgeden alınan örneğin, Gram boyalı preparatının incelenmesi sonucunda her sahada beşten fazla polimorfnüveli lökosit (PNL) saptanırken, intrasellular yerleşimli gram negatif diplokokların görülmemesi başta *C.trachomatis* olmak üzere gonokok dışı etkenleri düşündürmektedir. Erkeklerde asemptomatik üretrit tanısında ilk akım idrarının incelenmesi Gram boyalı incelemeden daha duyarlı bir yöntemdir. Bu yöntemle 40'lık büyütmede her sahada 10-15 PNL görülmesi anlamlıdır (6).

CDC, 25 yaş ve altındaki tüm cinsel aktif kadınlara ve risk faktörü olan daha yaşlı kadınlara tarama önermektedir. Erkeklerde; fizibilite, etkinlik ve maliyet etkinlik gibi birkaç faktörden dolayı, tarama önerilmemektedir. Cinsel olarak aktif genç erkeklerde tarama yapılması, klamidy prevalansı yüksek olan durumda (örneğin, ergen klinikleri, ıslah tesisleri ve CYBE kliniklerinde) düşünülmelidir. Erkeklerde hedeflenen klamidy taraması sadece kaynaklar izin verdiği zaman düşünülmelidir (31).

Kompleman fiksasyonu (CF), mikroiimmunofloresans (MIF) testleri de tanıda kullanılan serolojik testlerdir. CF testi *C. trachomatis* genital enfeksiyonlarının tanısı için duyarlılığı düşük bir testtir. Uyumlu klinik bulgularla gelen Lenfogranüloma venerum (LGV) hastalarında tanısal amaçlı kullanılabilir. MIF testiyle ise tür ve serovarlara spesifik antikor yanıtları tespit edilebilmektedir. IgM ve IgG antikorlarının

kantitatif saptanmasına olanak vermektedir. Standardize edilmesi gereken, teknik olarak zor ve zaman gerektiren bir testtir (47).

2.8.3. *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma genitalium* ve laboratuvar tanısında kullanılan yöntemler

Mollicutes sınıfından Mycoplasmataceae ailesine ait, hücre duvarı olmayan, hücre membranlarında sterol bulunduran, fakültatif anaerob, en küçük serbest yaşayan bakterilerdir. Genital mikoplazmaların insidansı, seksüel aktiviteye bağlı olarak puberteden sonra artmaktadır. Seksüel olarak aktif erkek ve kadınların %15'i, *Mycoplasma hominis*, %45-75'i *Ureaplasma* ile kolonize olmuşlardır. Genitoüriner sistemdeki kolonizasyon hastalığın tanısının konulmasını zorlaştırmaktadır. Bununla birlikte *M. hominis*'in immünkompromize hastalarda; piyelonefrit, postpartum ateş ve sistemik enfeksiyonlara; *U. urealyticum*'un nongonokoksik üretrit (NGU), piyelonefrit ve spontan düşük veya prematüre doğuma; *M. genitalium*'un ise NGU ve PEH'a neden olabileceği kabul edilmektedir (56). Aynı zamanda; *Mycoplasma hominis* normal vajen florasında bulunan *Gardnerella vaginalis*, *Mobiluncus* türleri ve çeşitli anaerob bakteriler ile bakteriyel vajinozise neden olan etkenler arasında sayılır (6). *M. genitalium*, ABD'de NGU vakalarının %15-25'inden sorumludur (31). *M. genitalium*'un kronik üretritle de ilişkili olabileceği düşünülmektedir (57, 58). Kültürünün yapılmasındaki zorluklar nedeniyle geçmişte zor tanımlanan *M. genitalium*, günümüzde PCR ile çok rahat tanımlanabildiğinden, gittikçe CYBE etkenleri içinde daha çok rolü olduğu ortaya çıkmaktadır (59). *M. genitalium* ilk olarak 1981 yılında non- gonokoksik üretriti olan 13 erkek hastanın 2'sinden izole edilmiştir (60). Günümüzde, *M. genitalium* erkeklerde non- gonokoksik üretritin, kadınlarda servisitinin sebepleri arasındadır (31, 53, 61).

Mycoplasma hominis, *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma genitalium* laboratuvar tanısı: Tüm bu etkenlerde; genital salgılar, DNA florokrom boyası (veya akridin oranj) kullanılarak mikroskopi ile araştırılabilmektedir. *M. hominis* ve *U. urealyticum* için antijen tanı testleri mevcut değildir. *M. genitalium* için ise antijen tanı testleri önerilmemektedir. Kültürde, etkenler çeşitli genital örneklerden izole edilebilmektedir. Pamuk sarılmış tahta eküvyonlardan kaçınılmalı ve çevre koşullarına çok duyarlı olduklarından uygun taşıma besiyerleri kullanılmalıdır. Mycoplasmalarda

arjinin ilave edilmiş glukozlu sıvı besiyeri kullanılırken, *U. urealyticum* ve *M. hominis*'de A8 agar besiyeri kullanılabilir. Kültürde üreme 2-4 gün arasında gerçekleşir. *U. urealyticum* kültürde üremesi sırasında bir yandan üreye ihtiyaç duyarken diğer yandan ürenin metabolizması sonucu oluşan alkali ortam mikroroganizmanın üremesini inhibe etmektedir. *M. genitalium* kültürünün duyarlılığının düşük olması tanının doğrulanması için kullanımını kısıtlamaktadır. *M. hominis* ve *U. urealyticum* için serolojik testler rutin kullanım için önerilmemektedir. *M. genitalium* için MIF ve Western blot yöntemi tanımlanmıştır ancak hiçbirisi ticari olarak bulunmamaktadır. Moleküler testlerden PCR tüm etkenler için pratik uygulamada kullanılabilir durumdadır. Bu testlerin duyarlılığı çok yüksek olmasına rağmen, özgüllükleri çok iyi bilinmemektedir (56, 62). ABD'de, *M. genitalium* için standardize olmuş ve ticari kullanıma sunulmuş tanı testleri halen mevcut değildir (31).

2.8.4. *Trichomonas vaginalis* ve laboratuvar tanısında kullanılan yöntemler

T. vaginalis, hareketli anaerop bir protozondur. İdrar, semen, tuvalet kağıtları ve giysiler üzerinde bir kaç saat canlı kalabilmesine karşın cinsel ilişki dışında bulaşma nadirdir (63). Enfekte olan kişilerin yaklaşık %70'i asemptomatiktir (64). Semptomlar genellikle menstrüasyon sırasında veya hemen sonrasında ortaya çıkmaktadır. Fizik bulgular hastalığın ciddiyetine göre değişir. Vulvar eritem (%10-33), ödem ve sarı-yeşil, yapışkan, pis kokulu akıntı mevcuttur. Vajina duvarı eritematöz ve granüler görünümdedir. Servikste ki nokta hemorajiler, çilek görünümü (colpitis macularis) verir. Gebelerde erken membran rüptürü ve prematüre doğum nedeni olabilir (63, 64).

Trichomonas vaginalis'in laboratuvar tanısı: Tanı, kadınlarda genellikle vajinal akıntıdan mikroskopi ile konmaktadır, fakat bu yöntemin duyarlılığı sadece %60-70'dir ve optimum sonuçlar için ıslak preparatın çok hızlı bir şekilde değerlendirilmesi gereklidir. *T. vaginalis* şüphelenilen fakat ıslak preparatta parazitin görülmemesi durumunda kültür yapılmalıdır (31). Genel olarak erkeklerde tanı koymakta zorlanılmaktadır. Erkeklerde, ıslak preparat duyarlı bir yöntem değildir ve hızlı testler arasında bulunmamaktadır. Kültür; üretral akıntı örnekleri, idrar ve semen örnekleri için tercih edilebilecek bir tanı yöntemidir. *T. vaginalis* için oral ve rektal örneklerin test edilmesi önerilmemektedir (31, 65).

T. vaginalis enfeksiyonunun tanısında direkt mikroskopi ve kültür yöntemlerinin yanında Giemsa, Papanicolaou ve akridin oranj gibi boyama yöntemleri de tanı amacıyla kullanılmaktadır (63). Kültür, tanıda duyarlılığı çok yüksek ve altın standart olarak kabul edilen bir yöntemdir. RNA probe yarı otomatize sistemler, dipstick ELISA testleri kullanımda olan hazır ticari sistemlerdir. NAAT gelişmekte olan testlerdir ancak şimdiye kadar değişken sonuçlar göstermiştir (65, 66). Bununla birlikte bazı NAAT leri, rneğin; PCR veya transcription-mediated amplification (TMA) yönteminin erkeklerde daha yüksek duyarlılığa sahip olduğu bildirilmektedir (31).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Hastaların Seçimi

Metodolojik tipte olan çalışmamıza, Şubat- Mayıs 2013 döneminde T. C. Sağlık Bakanlığı Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi (AEAH) Üroloji Polikliniği ve Kadın Hastalıkları ve Doğum Polikliniği'ne başvuran 46 semptomatik erkek hasta ve 50 semptomatik kadın hasta olmak üzere toplam 96 hasta dahil edildi. Çalışmamızın etik kurul izni AEAH, Eğitim, Planlama ve Koordinasyon Kurulu kararı ile alındı.

Çalışmamıza dahil olan hastalara, klinisyen tarafından yüz yüze görüşme tekniği ile muayene sırasında anket uygulandı. Anket formunda, sosyodemografik özellikler, semptomlar, şüpheli cinsel ilişki, doğum kontrol yöntemi, kişisel hijyen, CYBE geçirme öyküsü gibi konularda sorular soruldu (Ek-1).

3.2. Örneklerin Alınması ve Taşınması

Kadın ve erkek hastalar için ayrı ayrı olacak şekilde aşağıda tanımlandığı şekilde örnekler alındı. Tüm örneklerin, antibiyotik tedavisinden önce alınmasına dikkat edildi.

Kadın Hasta:

Örneklerin alınması: Örnekler alındığı sırada hastaların aktif menstrual siklusa olmamalarına, ayrıca endoservikal örnek alınırken analjezik, antiseptik ve lubrikanların kullanılmamasına dikkat edildi. Ilık su ile nemlendirilmiş spekulum takılıp kanalın ağzındaki mukus temizlendikten sonra, uygun eküvyon ile 2 cm kadar kanala girildi, eküvyona rotasyon yaptırılarak 5-10 sn. bu bölgede tutuldu. Vajinal mukozaya değdirilmeden çıkartılıp, uygun taşıma besiyerine konuldu.

Örnek türleri ve çalışılan testler: Her hastadan, 3'ü endoservikal sürüntü örneği, 1'i vajinal sürüntü örneği ve 1'i ilk akım idrarı olmak üzere toplam 5 farklı örnek alındı.

1. Steril ilk akım idrarı (Ön İdrar): İdrarda multipleks PCR testi için alınan idrar örnekleri; spekulum muayenesinden önce ve hasta bir önceki idrarını yaptıktan en

az 2 saat sonra olacak şekilde, steril idrar kabına 10-30 ml ilk akım idrarı (ön idrar)olarak toplandı.

2. Endoservikal sürüntü örneği (1) : *Neisseria gonorrhoeae* kültürü ve gram boyama için; steril, naylon fiber uçlu (CopanSürüntü, microRheologics, Brescia, İtalya) plastik şaftlı Stuart taşıma besiyerli eküvyonlar kullanıldı. Örnek alındıktan sonra hiçbir yere temas etmeden taşıma besiyerine yerleştirildi.

3. Endoservikal sürüntü örneği (2): Multipleks PCR ve Chlamidya DFA testler için; steril, naylon ve non- alüminyum endoservikal eküvyonlar (CopanSürüntü, microRheologics, Brescia, İtalya) kullanıldı. Örnek uygun eküvyon ile alındıktan sonra, firmanın önerdiği 2ml sıvı taşıma besiyerine [Universal transport medium (UTMTM), Copan, İtalya] yerleştirildi, eküvyonun üstte kalan kısmı kırılıp, eküvyon içinde kalacak şekilde tüpün ağzı sıkıca kapatıldı.

4. Endoservikal sürüntü örneği (3) : *Mycoplasma hominis-Ureaplasma urealyticum* tayininde kullanılan, kültür bazlı ticari identifikasyon kiti için; steril, pamuk uçlu tahta şaftlı eküvyonlar (Tampon Sürüntü, Cultiplast®, İtalya) kullanıldı. Örnek alımından hemen sonra eküvyonlar, üretici firma tarafından sağlanan, Mycoplasma taşıma besiyerine (UMMt medium) tahta kısmı kırılarak yerleştirildi, şişenin ağzı sıkıca kapatıldı.

5. Vajinal sürüntü örneği: *Trichomonas vaginalis* direkt bakı ve kültürü için; steril, pamuk uçlu Stuart transport besiyerli eküvyonlar (OR-BAK, Ankara, Türkiye) kullanıldı. Vajen posterior forniksten örnek alındıktan sonra eküvyon taşıma besiyerine batırıldı.

Erkek Hasta:

Örneklerin alınması: Üretral örnek alımı sırasında, hastanın son 1 saat içerisinde idrar yapmamış olmasına dikkat edildi. Akıntı varlığında, akıntının kendisi üretral örnek olarak kabul edildi. Akıntı olmayan olgularda, üretral örnek, uygun eküvyon üretra içine 2-3 cm kadar sokulup 2-3 kere rotasyon hareketi yapıldıktan sonra alındı.

Örnek türleri ve çalışılan testler: Her hastadan, 4 üretral sürüntü örneği, üretral akıntı varlığında 1 direkt yayma preparat ve 1 ilk akım idrarı olmak üzere toplam 6 farklı örnek alındı.

1. Steril ilk akım idrarı (Ön İdrar): İdrarda multipleks PCR testi için alınan idrar örnekleri; hasta bir önceki idrarını yaptıktan en az 2 saat sonra olacak şekilde, steril idrar kabına 10-30 ml ilk akım idrarı (Ön İdrar) olarak toplandı.

2. Üretral Akıntı direkt yayma preperat: *Neisseria gonorrhoeae* direkt mikroskopi ve Gram Boyama için;akıntı varlığında örnek direkt olarak lama yayıldı, steril şeffaf petri kabına uygun bir şekilde yerleştirildi.

3. Üretral sürüntü örneği (1): *Neisseria gonorrhoeae* kültürü için;steril, pamuk uçlu, Stuart taşıma besiyerli ince alüminyum şaftlı üretral eküvyonlar (ORBAK, Ankara, Türkiye) kullanıldı. Örnek alındıktan sonra hiçbir yere temas etmeden taşıma besiyerine yerleştirildi.

4. Üretral sürüntü örneği (2): Multipleks PCR ve *Chlamydia* DFA için; steril, naylon fiber plastik, non-alüminyum üretral eküvyonlar (Copan, Brescia, İtalya) kullanıldı. Örnek uygun eküvyonile üretradan alındıktan sonra, kadın hastalarda tarif edildiği şekilde işleme tabi tutuldu.

5. Üretral sürüntü örneği (3): *Mycoplasma hominis*-*Ureaplasma urealyticum* tayininde kullanılan, kültür bazlı ticari identifikasyon kiti için; örnek üretradan alındıktan sonra kadın hastalarda tarif edildiği şekilde işleme tabi tutuldu.

6. Üretral sürüntü örneği (4): *Trichomonas vaginalis* direkt bakı ve kültürü için; steril, pamuk uçlu Stuart taşıma besiyerli eküvyonlar (OR-BAK, Ankara, Türkiye) kullanıldı. Üretradan örnek alındıktan sonra eküvyon hemen taşıma besiyerine konuldu.

Örneklerin Taşınması: Kültür ve direkt mikroskopi için toplanan sürüntü örnekleri uygun taşıma besiyerlerine yerleştirilerek mümkün olduğunca hızlı, bekletilmeden oda ısısında laboratuvara ulaştırıldı (≤ 2 saat). Multipleks PCR ve *Chlamydia* DFA çalışılacak tüm örnekler, yüksek örnek kalitesi sağlamak için 2-8°C'de

mümkün olduğunca hızlı, buz aküsü bulunan köpük taşıma kabında laboratuvara ulaştırıldı.

3.3. Etkenlere Göre Örneklerin İşlenmesi ve Uygulanan Konvansiyonel Yöntemler

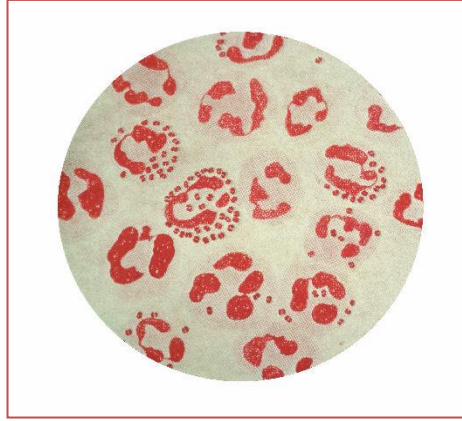
3.3.1. *Neisseria gonorrhoeae*

Neisseria gonorrhoeae'nin konvansiyonel tanısı için kültür ve gram boyalı direkt mikroskopi yöntemleri kullanıldı.

3.3.1.1. Direkt Mikroskopik İnceleme:

Erkek hastalarda üretral akıntı varlığında, direkt olarak alınan akıntı örnekleri metanol ile fikse edildikten sonra gram boyama yöntemi ile boyandı. Eğer hastadan direkt üretral akıntı örneği lam üzerine alınamadıysa, kültür için alınan uygun üretral sürüntü örnekleri ve aynı şekilde kadın hastalardan kültür için alınan uygun endoservikal sürüntü örnekleri, önce kültür işlemi yapıldıktan sonra, Gram boyaması için, lama %0.9'luk serum fizyolojik (SF) damlatılarak sürüntü şeklinde yayılıp, oda ısısında kuruduktan sonra metanol ile fikse edildi. Daha sonra Gram boyama yöntemi ile boyandı.

Gram boyalı preparatların, X100 büyütmede mikroskopik değerlendirilmesi yapıldı. *Neisseria gonorrhoeae* için, intra ya da ekstrasellüler yerleşimli gram negatif kahve çekirdeği şeklinde diplokokların görülmesi pozitif olarak değerlendirildi (Resim 3.1). Preparatlar, epitel sayısı, PNL sayısı, mikroorganizmalar (maya hücreleri, laktobasiller, farklı morfolojide bakteriler) yönünden de incelendi.



Resim 3.1. *Neisseria gonorrhoeae*'de intrasellüler yerleşimli gram negatif kahve çekirdeği şeklinde diplokoklar

3.3.1.2. Kültür Yöntemi

Neisseria gonorrhoeae kültürü için; uygun üretral ve endoservikalsürüntü örneklerinin, en kısa zamanda, Modifiye Thayer Martin (MTM) besiyerine (OR-BAK, Ankara, Türkiye) ve %5'lik insan kanlı besiyerine ekimleri yapıldı. Plaklar 35-37°C'de, %5-10 CO₂ ortamda, 72 saat süreyle inkübe edildi. 24-48 ve 72. saatlerde plaklar mikrobiyolojik olarak değerlendirildi. Negatif sonucun raporlanması için plaklar 72 saate kadar bekletildi. *N. gonorrhoeae*'ye benzeyen, küçük (yaklaşık 0,5 mm çapında), parlak, yüzeyden kabarık, şüpheli kolonilerden hazırlanan sürüntüler Gram boyama ile incelendi (Resim 3.2). Gram boyamada gram negatif kahve çekirdeği şeklinde diplokokların görülmesi tanıyı destekledi. Tanımlama için şüpheli kolonilere katalaz ve oksidaz testleri uygulandı. Bu testleri takiben glikoz ve maltoz olmak üzere karbonhidrat kullanım testleri uygulandı. Katalaz ve oksidazı pozitif ve sadece glikozu fermente eden izolatlar *Neisseria gonorrhoeae* olarak tanımlandı.



Resim 3.2. MTM ve İnsan Kanlı besiyerinde, ürettiğimiz *Neisseria gonorrhoeae* suşlarının koloni görünüşleri (Sol: MTM besiyeri, sağ: insan kanlı besiyeri)

İnsan kanlı besiyerine ekilen örnekler normal flora bakterileri, mayalar, *Gardnerella vaginalis* yönünden de incelendi. Kanlı besiyerinde üreyen şüpheli kolonilerin Gram boyaması yapıldı. *G. vaginalis* ile uyumlu, küçük (<0,5 mm), kanlı agarda ince beta hemoliz yapmış kolonilerden gram boyama yapıldı. Küçük gram-değişken kokkobasillerin görülmesi *G. vaginalis* yönünden değerlendirildi. Buna ek olarak vajen direkt bakısında, vaginal akıntıdan yapılan yaymada “clue hücreler” in varlığı ile tanı desteklendi.

Kanlı agarda maya benzeri, beyaz, kremamsı koloniler % 0.9'luk SF ile lam/lamel arası direkt preparat hazırlanıp incelendi. Oval, tomurcuk yapmış blastosporların görülmesi *Candida* lehine değerlendirildi. İdentifikasyon için Germ Tüp Testi yapıldı (53). İki saat sonunda, mayaların lam/lamel arası mikroskopik incelemesinde germ tüp yapmış mayalar, *Candida albicans* olarak değerlendirilirken, germ tüp oluşturmamış mayalar *albicans* dışı *Candida* spp. olarak değerlendirildi.

3.3.2. *Chlamydia trachomatis*

Chlamydia trachomatis 'in konvansiyonel tanısı için ticari DFA testi uygulandı.

3.3.2.1. DFA Testi

DFA Slaytlarının Hazırlanması: Multipleks PCR ve *Chlamydia* DFA çalışması için alınan ve buz aküsünde gelen uygun örnekler, sıvı taşıma besiyeri vortekslendikten sonra, içindeki eküvyon çıkartılarak, immünofloresan inceleme için özel olarak hazırlanmış, teflon lam üzerine yayıldı. Örnekler eküvyondan lama yayılırken, eküvyon döndürülerek yayma işlemi gerçekleştirildi. Eküvyonun tamamında bulunan örneğin homojen bir şekilde lama aktarılmasına ve her bir kuyucuğu tamamen kaplayacak şekilde yayılmasına dikkat edildi. Örnekler havada kurutulduktan sonra üzerine saf metanol uygulanarak 5 dakika tespit edildi. Tespit işleminden sonra örnek 1 gün sonra çalışılacaksa +4 °C de buzdolabında saklandı. Daha uzun sürede çalışılacaksa -20°C'de dondurularak saklandı.

DFA Tekniğinin Prensibi: DFA incelemesinde, Fluorotect® ChlamydiaRef. ODO19 (*Omega Diagnostics*, UK) kit içeriğinde bulunan floresan izotiyosiyanat (FITC) işaretli monoklonal antikor solüsyonu kullanıldı. FITC işaretli monoklonal antikorlar *C. trachomatis*'in tüm serotiplerinde ortak olan hücre duvarında bulunan Major Outer Membrane Protein (MOMP)'e özgüdür. Floresan mikroskobu altında, *C. trachomatis* EB veya RB'leri kırmızımsı-kahverengi zeminde parlak elma yeşili floresan verirler.

DFA Tekniğinin Uygulanış Şekli: DFA Testi kit üreticisinin protokolüne uygun olarak çalışıldı.

1. Teste başlanmadan önce tüm re ajanler oda ısısına getirildi. Kullanmadan önce, köpük oluşumuna neden olmadan yavaşça çalkalandı.

2. Lam üzerinde tespit edilmiş her bir hasta örneğinin üzerine ve pozitif kontrol slaytına, tüm kuyucuk alanını kaplayacak şekilde 25 µl *C. trachomatis*'e özgül floresan işaretli monoklonal antikor solüsyonu (*Fluorotect Chlamydia Reagent*) dağıtıldı.

3. Karanlık ve nemli ortamda, 37°C'de 30 dakika inkübe edildi.

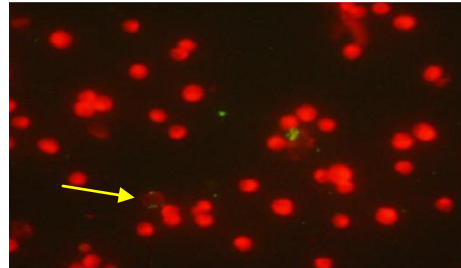
4. İnkübasyondan sonra teflon lamalar, içinde pH 7.4 olan Phosphate Buffered Saline (PBS) yıkama solüsyonu bulunan şalelere konularak yaklaşık 1 dakika yıkama işlemi yapıldı. Bu işlem sırasında lamalar yavaşça çalkalandı.

5. Şalelerden çıkarılan örneklerin çevresindeki fazla PBS kurutma kağıdı ile silindi.

6. Lam üzerindeki her bir alana, bir damla gliserol solüsyonu (*Fluorotect Chlamydia Mounting Fluid*) damlatılarak üzerleri lamel ile kapatıldı. Hava kabarcıklarının oluşmamasına dikkat edildi.

7. Örnekler hazırlandıktan hemen sonra, floresan mikroskopta (Leica DM 2500, Almanya) x40'lık ve x100'lük büyütmede incelendi.

Örneklerin Değerlendirilmesi: Değerlendirmede, tüm mikroskop alanında en az 10 adet klamidyal cisimciğin bulunması esas alındı. Örneklerde toplu iğne başı büyüklüğünde (yaklaşık 300 nm), parlak, yuvarlak, düzgün kenarlı, elma yeşili renkte EC'lerin görülmesi, EC'lerden 2-3 kat daha büyük aynı şekilde floresan veren veya floresan bir halo ile koyu bir merkeze sahip olan RC'lerin görülmesi *C. trachomatis* açısından pozitif olarak değerlendirildi (Resim 3.3). Negatif tanı ise; örnekte klamidyal cisimciklerin görülmemesi ve en az 10 kolumnar hücrenin görülmesiyle konuldu. Klamidyal cisimciklere göre düzensiz şekilli, farklı büyüklükte ve beyaz, kırmızı ya da sarı floresan ışımlar, özgül olmayan ışımlar olarak değerlendirildi.



Resim 3.3. *Chlamydia trachomatis*'in DFA Testinde Floresan Mikroskobunda görünümü

3.3.3. *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma genitalium*

Ureaplasma urealyticum ve *Mycoplasma hominis* için kültür bazlı, antibiyotik doğal direnç temeline dayanan ticari, yeni jenerasyon MYCOFAST®Evolution 3 (ELITechMicrobio, Signes, Fransa) kiti kullanıldı. Üretici firmanın önerileri doğrultusunda çalışıldı. *Mycoplasma genitalium* tanısı için aynı özelliklerde ticari bir kit bulunmadığından konvansiyonel bir yöntem çalışılamadı. *M. genitalium* için sürüntü örneklerinden multipleks PCR çalışıldı. Aynı zamanda bu etken için, sürüntü örneği multipleks PCR ile pozitif çıkan, aynı hastaya ait idrar örneklerinden de multipleks PCR çalışıldı (bkz3.4.).

3.3.3.1 Kültür Tabanlı Ticari İdentifikasyon Kiti (MYCOFAST®Evolution 3)

MYCOFAST®Evolution3, *M.hominis* ve *U. Urealyticum* gibi ürogenital mikoplazmaları, sıvı besiyerlerinde hızlı bir şekilde tespit etmek, kantitatif olarak miktarlarını vermek, identifiye etmek ve antibiyotik direncinin araştırılmasını sağlamak amacıyla geliştirilmiş yeni jenerasyon bir kittir. Testin prensibinde, bakterilerin sıvı besiyerlerinde oluşan biyokimyasal özelliklerinin yanı sıra doğal antibiyotik direnç özellikleri kullanılmıştır. *U. urealyticum*'un üreyi, *M.hominis*'in arjinini hidroliz etmesiyle, indikatör olarak fenol kırmızısı içeren mediumlarda sarıdan kırmızıya renk değişimi gözlenmektedir. Bunun sebebi üretilen amonyaktan dolayı mediumun alkali pH'a sebep olmasıdır. İdentifikasyon; bakterilerin eritromisin, linkomisin ve trimetoprim-sülfametoksazol gibi antibiyotiklere direnç durumlarına göre yapılmıştır. Üre ve arjininin hidroliz hızı, ki bu örnekte bulunan bakteri sayısı ile orantılır, temel alınarak kantitatif miktarlar tespit edilmektedir. Bakteri sayısının hesaplanması strip üzerindeki üre ve/veya arjininin hidroliz dereceleri üzerinden yapılarak renk değiştiren unit (color changing unit, CCU) terimi ile ifade edildi. Test, *U. urealyticum* için kantitatif olarak 10^3 , 10^4 ve $\geq 10^5$ CCU/ml yoğunluğunu gösterirken, *M.hominis* için sadece $\geq 10^4$ CCU/ml yoğunluğunu göstermektedir. Antibiyotik duyarlılık paterninde doksisisiklin (DO) , roksitromisin (ROX), ofloksasin (OFX) , josamisin (JM), azitromisin (AZM), pristinamisin (PT), siprofloksasin (CIP) olmak üzere 7 tane antibiyotik bakılmaktadır. *M.*

hominis eritromisin ve diğer makrolidlere doğal dirençli, linkomisine duyarlıdır. *U. urealyticum* ise eritromisine duyarlı linkomisine dirençlidir.

Mycoplasma taşıma besiyerine (UMMt) alınan üretral ve endoservikal eküvyonlar üreticinin çalışma talimatı ve kit içeriğine göre çalışıldı. Aşağıdaki basamaklar takip edildi (Şekil 3.1):

1. Taşıma besiyerinin (UMMt) tamamı, liyofilize üretme besiyeri içeren UMMLyo şişelerine aktarıldı. Süspansiyonun oluşması için hafifçe çalkalanarak iyice karıştırıldı.

2. Bu karışım, 20 kuyucuktan oluşan kitin tray bölümüne, her kuyucuğa ayrı ayrı olmak üzere 100'er µl dağıtıldı.

3. *M. hominis* identifikasyonu için özel olan 6. ve 7. kuyucuklara 50µl *M. hominis* suplementi (S.M.h) eklendi. Bu solüsyon, *M. hominis* için üreme aktivatörüdür.

4. Daha sonra tüm kuyucuklara anaerob ortam sağlamak için 2 damla parafin yağı ilave edildi.

5. Kuyucukların üstü, koruyucu bant ile kapatıldıktan sonra, 37°C'de 24-48 saat inkübe edildi. 24. ve 48. saatlerde kolorimetrik olarak değerlendirme yapıldı.

Tanımlama, kuyucuklarda oluşan sarıdan kırmızıya renk değişimine, linkomisin, trimetoprim-sulfametoksazol ve eritromisine karşı antibiyotik direnç profillerine bakılarak yapıldı. Kuyucuklarda oluşan renk turuncu-kırmızı ise pozitif, sarı ise negatif olarak değerlendirildi. Kantitatif sayımları belirlemek için de ilgili kuyucuklardaki renk değişikliği, sarıdan kırmızıya geçiş değerlendirildi.

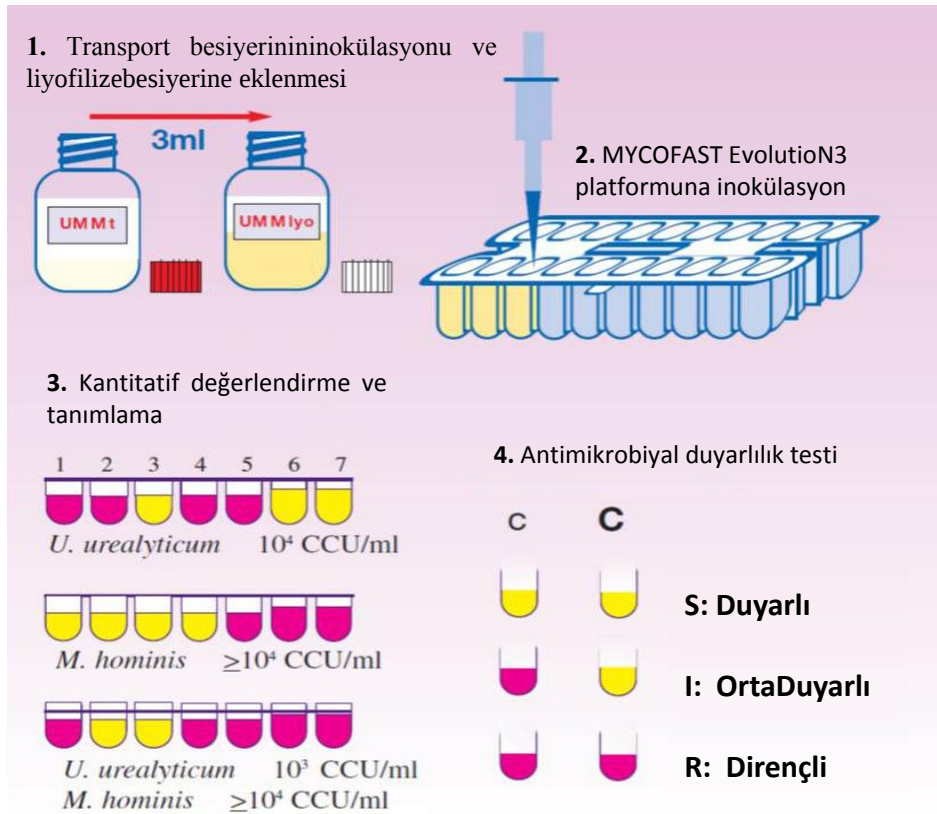
U. urealyticum identifikasyonu: üreyi hidrolize etmesi, linkomisin ve trimetoprim-sulfametoksazole dirençli, eritromisine duyarlı olması ile yapıldı.

M. hominis identifikasyonu: Bu mikroorganizmanın arjinini hidrolize etmesi, trimetoprim-sulfametoksazol ve eritromisine dirençli, linkomisine duyarlı olması ile konuldu.

Her iki bakteri varlığında ise trimetoprim-sülfametoksazol, eritromisin ve linkomisin kuyucuklarında berrak kırmızı renk varlığı gözlemlendi.

Antibiogram yorumu ise kuyucuktaki kırmızı rengin üremeyi ve direnci, sarı rengin duyarlılığı göstermesi esas alınarak yapıldı. Yüksek ve düşük konsantrasyonda olmak üzere, ikişer kuyucuk bulunan antibiyotiklerin duyarlılıklarının değerlendirilmesinde; antibiyotiğe ait iki kuyucukta da üreme yoksa duyarlı, ilk kuyucukta (düşük konsantrasyonda) üreme var ikincisinde (yüksek konsantrasyonda) yoksa orta duyarlı, her iki kuyucukta da üreme varsa dirençli olarak değerlendirildi. Pristinamisin için sadece tek bir konsantrasyon (kuyucuk) test edildi (Resim 3.4).

Erkeklerde *U. urealyticum* için patolojik eşik değeri üretral numuneler için $\geq 10^4$ CCU/ml kadınlarda *M. hominis* için patolojik eşik değeri endoservikal numuneler için $\geq 10^4$ CCU/ml'dir.



Şekil 3.1.MYCOFAST® EvolutionN3 kitinde kullanılan yöntem



Resim 3.4. MYCOFAST® EvolutionN3 kitinin traylerinin değerlendirilmesi (Solda; Negatif hasta, Sağda; $10^4 U. urealyticum$ üremesi olan, aynı zamanda siprofloksasin direnci ve ofloksasin orta duyarlı olan hastamız görülmektedir)

3.3.4. *Trichomonas vaginalis*

Trichomonas vaginalis tanısı için vajinal ve üretral sürüntü örneğinden ıslak preparat hazırlanıp mikroskopik olarak değerlendirildi. Aynı zamanda, kültür için Modifiye Diamond besiyerine ekim yapıldı.

3.3.4.1. Direkt Mikroskopi Yöntemi

Uygun eküvyonlarda gelen vajinal akıntı ve üretral akıntı örnekleri, SF ile karıştırıldıktan sonra *T. vaginalis*'i ve aktif hareketini saptamak için en kısa zamanda mikroskopide bakıldı. Vajen örnekleri; epitel hücreleri, PNL, eritrosit, laktobasiller, maya hücreleri, clue hücreleri yönünden incelenirken, üretral akıntı örnekleri; epitel hücreleri ve PNL varlığı yönünden araştırıldı. En az bir hareketli *T. vaginalis* trofozoitin görülmesi pozitif olarak kabul edildi.

3.3.4.2. Kültür

Kültür için; at serumu ilaveli Modifiye Diamond (MD) besiyeri (QuebactLaboratoriesinc., Montreal, Kanada) metilen mavisi ilaveli olarak kullanıldı. **Tablo 3.1**'de, bir litre besiyeri için gerekli olan malzemeler belirtilmiştir. Besiyerinin pH değeri 6,0'dır. Besiyeri uygun şartlarda steril edildikten sonra 2 ml olacak şekilde steril cam tüplere bölündü. Ekimi yapılana kadar 4°C 'de saklandı. Direkt mikroskopisi yapılan örnekler, oda sıcaklığına getirilmiş at serumu ilaveli Modifiye Diamond sıvı

besiyerine hızla inoküle edildi (Resim 3.5). 5 gün süreyle 37°C'de inkübe edildi, her gün lam- lamel arası preparat hazırlanarak x40'lık büyütmede mikroskopik olarak değerlendirildi. *T. vaginalis* trofozoitlerinin görülmesiyle tanı konuldu. Üreyen, trofozoitlerin hangi günde üredikleri belirtildi. 5 gün içinde üreme görülmeyen besiyerleri negatif olarak kabul edildi.

Tablo 3.1. Modifiye Diamond besiyerinin içeriği

Kasein pepton	20 gr
Maya ekstresi	10 gr
Potasyum Fosfat, difazik	0,8 gr
Potasyum Fosfat momobazik	0,8 gr
L-sistein HCL	0,1 gr
Askorbik Asit	0,2 gr
Maltoz	5 gr
Agar	0,5gr
At Serumu	100ml
Vankomisin	0,02 gr
Gentamisin	0,02 gr
Amphotericin B	0,01 gr
Metilen Mavisi	0,03gr



Resim 3.5. Metilen Mavisi içeren inoküle MD

3.4. DPO™ (Dual primingoligonükleotid) tabanlı Multipleks PCR yöntemi

Nükleik Asit İzolasyonu; GeneAll®Ribospin™ vRD ekstraksiyon kiti (GeneAllBiotechnologyCo., LTD, Seoul, Kore) ve DNA amplifikasyonu, Seeplex®STD6 ACE Detection kiti (Seegene, Seoul, Kore) ile üreticinin talimatlarına göre yapıldı. PCR sonrası ürünlerin analizi, ScreenTape sistemi kullanılarak Lab901(Agilent Technologies Inc., Edinburgh, İngiltere)cihazında otomatize olarak yapıldı. PCR ürünleri, Lab901 cihazında özel ScreenTape kartujlarında (ScreenTape DS12) yürütüldü.

3.4.1. DNA Ekstraksiyonu

İdrar Örnekleri için yapılan ön işlem: Sadece sürüntü örneklerinde *N. gonorrhoeae*, *C. trachomatis*, *M. genitalium* ve *T.vaginalis* pozitif çıkan hastaların idrar örneklerinde moleküler testler çalışıldı.

Soğuk zincir koşullarında laboratuvara ulaştırılan idrar örnekleri, oda ısısına gelene kadar bekletildi. 10-30 ml örnek 5000xg de (7500 rpm) 15-20 dakika santrifüj edildi. Süpernatant döküldükten sonra, pellet 1 ml steril distile su ile vorteksenerek (15-20 sn) çözüldü. Bundan sonra izolasyon kitinin protokolü takip edildi.

Sürüntü Örnekleri için yapılan ön işlem: Üretral ve endoservikal sürüntü örnekleri oda ısısına gelene kadar bekletildi. Transport medium içerisindeki eküvyonlar vorteksenerek iyice karıştırıldı. Tüpün içindeki eküvyon, *Chlamydia* DFA testi için özel teflon lamlara yayıldı. Kalan sıvı ile izolasyon kitinin protokolü takip edildi.

DNA ekstraksiyon işlemi için GeneAll® Ribospin™ vRD ekstraksiyon kiti (GeneAllBiotechnologyCo., LTD, Seoul, Kore) kullanıldı. Bu kitte uygulanan yöntem ile sürüntü, idrar, plazma, serum, hücre kültürü süpernatantı gibi örneklerden hem DNA hem RNA izolasyonu yapılabilir. Ribospin™ vRD ile, cam-elyaf membran (glass fiber membrane) teknolojisi kullanılarak spin kolon ekstraksiyonu yapılmaktadır. Kit kullanılabildiği kadar oda sıcaklığında saklandı. Bu işlem sırasında uygulanan basamaklar aşağıda belirtildi (Şekil 3.2) :

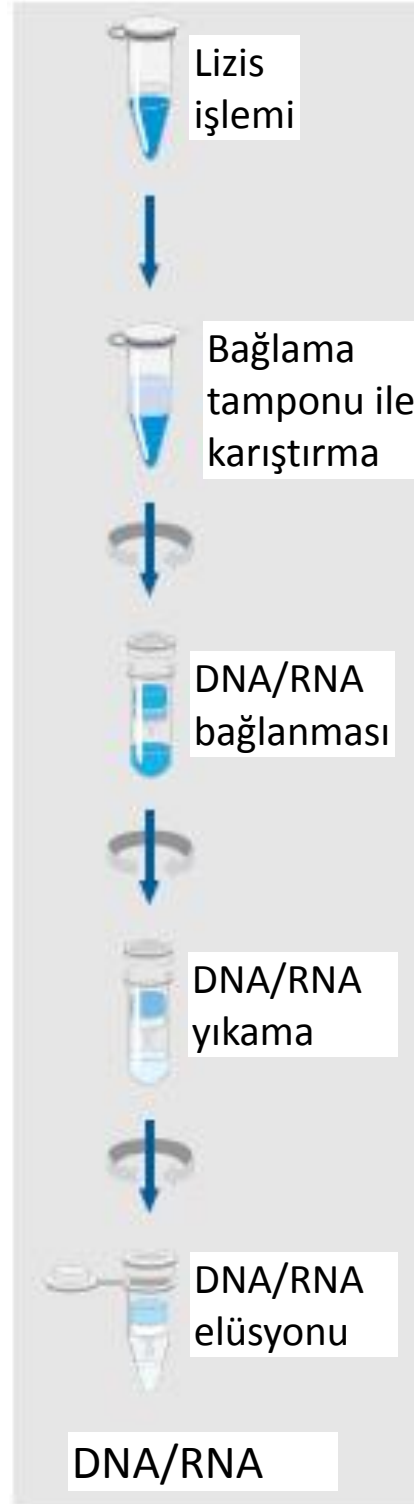
1. 300µl örnek sıvısı 1,5 ml'lik ependorf tüpüne koyuldu.
2. 500 µl Lizis Tamponu (Buffer VL; hücre parçalanmasını ve hedef DNA'nın ortaya çıkmasını sağlamaktadır), örnek içeren ependorf tüpüne eklendi ve 15 saniye vortekslendi..
3. Vortekslenen ependorf tüp içeriği, 10 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı.
4. 700 µl Bağlama Tamponu (Buffer RB1) tüpe eklendi, yavaşça ve tamamen vorteks yapıldı. Lizis tamponu ve bağlama Tamponun karışımı ile, DNA'nın cam-elyaf membrana (glassfibermembrane) etkin bir şekilde bağlanması sağlandı.
5. Ependorf tüp içeriğinin 750µl'si, spin filtreli 2 ml'lik tüpe aktarıldı.
6. Spin filtreli tüp 10.000 g'de 1 dakika santrifüj edildi.
7. Spin filtre alınıp, altındaki tüp içeriği boşaltıldı. Daha sonra spin filtre tekrar içerisinde sıvı kalmayan aynı tüpe yerleştirildi.
8. Ependorf tüp içeriğinin (lizat) geri kalan kısmı içinde yukarıda yapılan son 3 basamak (5, 6, 7. basamaklar) tekrar edildi. Böylece hedef DNA'nın spin filtreye bağlanması sağlandı.
9. Spin filtre üzerine 500 µl birinci yıkama solüsyonu (Buffer RBW) eklendi ve 1 dakika 10.000 g'de santrifüj edildi.
10. Spin filtre alındı, altındaki tüp içeriği boşaltıldıktan sonra tekrar içerisinde sıvı kalmayan aynı tüpe yerleştirildi.
11. Spin filtre üzerine 500 µlikinci yıkama solüsyonu (Buffer RNW) eklendi ve 1 dakika 10.000 g'de santrifüj edildi.
12. Spin filtre alınarak altındaki tüp boşaltıldı ve bu filtre yine aynı tüpe yerleştirildi. Daha sonra tüp 10.000 g'de 1 dakika, filtrede kalmış olabilecek fazla etanolü (Buffer RNW içeriğinde bulunan) uzaklaştırmak amacıyla boş olarak, hiçbir madde eklemenden santrifüj edildi. Yıkama basamaklarının amacı, filtrede tutulan

nükleik asiti daha saf ve temiz bir şekilde filtreden ayırmadan önce, tüm hücre içi ve dışı atık maddelerden uzaklaştırmaktır. Etanol artığı, sonraki reaksiyonları etkileyebilmektedir.

13. Spin filtre alındı, temiz ve yeni 1,5 ml'lik ependorf tüpüne yerleştirildi, üzerine 50 µl elüsyon solüsyonu (Nuclease free water) eklendi.

14. 10 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra 1 dakika 10.000 g'de santrifüj edilerek, nükleik asitin spin filtreden ayrılarak elüsyon solüsyonu ile birlikte ependorf tüpüne geçmesi sağlanarak, DNA eldesi tamamlandı.

15. Spin filtre atılıp, tüp içerisinde kalan sıvı (DNA), PCR aşamasında kullanılmak üzere -20°C'de saklandı.

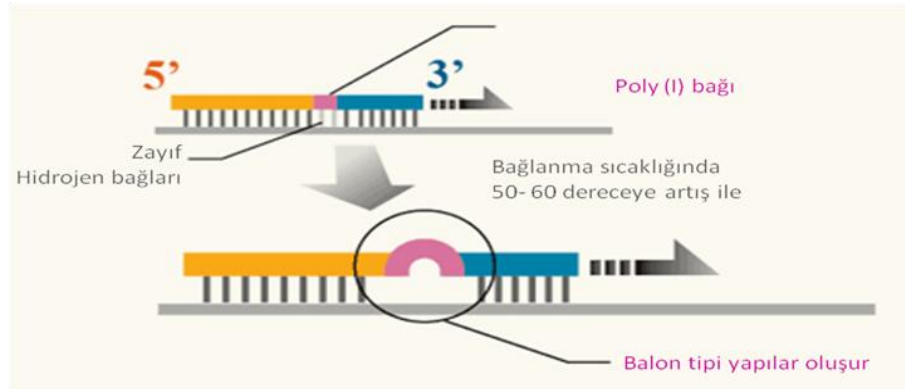


Şekil 3.2. DNA ekstraksiyonunun basamakları

3.4.2. DNA Amplifikasyonu ve DPO™ Teknolojisi

DNA amplifikasyonu, Seeplex[®] STD6 ACE Detection kiti (Seegene, Seoul, Kore) ile üreticinin talimatlarına göre yapıldı. Hedef nükleik asitlerin PCR amplifikasyonu, DPO™ primerleri kullanılarak yapıldı.

DPO™ Teknolojisinin temel prensibine göre; DPO™ primerlerinde bulunan Deoxyinosine göreceli olarak doğal bazlara göre düşük erime (melting) sıcaklığına sahip olduğu için, belli bir bağlanma (annealing) sıcaklığından (50-65°C'ye artan bağlanma sıcaklığında) ve daha zayıf hidrojen bağlarından dolayı, poly (I) bağı, balon benzeri yapı meydana getirir ve böylece primerde iki fonksiyonel bölge oluşur (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. DPO™ Teknolojisinin temel prensibi, Poly (I) bağı aktivasyonu

Oluşan bu primer bölgelerinden ilk primer bölgesi, hedef bölgeye sabit bağlanmayı sağlarken, ikinci primer bölgesi hedef bağlanmayı sağlamaktadır. Böylece sadece hedef ürünler çoğalmaktadır. Dolayısıyla, bu iki primer bölgesinde hedef bölgeye uygun şekilde bağlanmadığı takdirde herhangi bir çoğalma olmamaktadır (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. DPO™ Primer Teknolojisinin Temel Prensibi

DNA amplifikasyonu için kullanılan kitin içeriği, malzemelerin hacimleri ve özellikleri Tablo 3.2’de gösterildi.

Tablo 3.2. Seeplex STD6 ACE Detection Kit			
Sembol	İçerik	Hacim	Açıklama
PRIMER	5X STD6 ACE PM	200 µL	Primer Miksi (PM): • 6 patojen primer çifti • İnternal kontrol primer çifti
PREMIX	2X Multipleks Master Mix	500 µL	• DNA Polymerase • dNTP’ler • MgCl2 ve stabilizatör
MOP	8-MOP Solution	150 µL	• Çapraz reaksiyonu ve kontaminasyonu engelleyici sistem
MARKER	STD6 ACE Marker	100 µL	Amplikon size marker: • Agaroz jelde PCR ürünlerini analiz etmek için kullanılan marker
CONTROL IC	STD IC	250 µL	İnternal Kontrol (IC): • Nükleik asit izolasyon işleminin kontrolü ve olası PCR inhibisyonunun kontrolünü sağlamak için kullanılır
CONTROL +	STD6 ACE PC	15 uL	Pozitif Kontrol (PC) 6 patojenin kontrol klonlar
CONTROL -	STD6 ACE NC	15 uL	Negatif kontrol olarak steril su

Multipleks PCR master miksi, ayrı bir temiz odada aşağıda gösterildiği şekilde hazırlandı ve de örnekler farklı bir odada misklere ilave edildi.

4 µl	X STD6 ACE PM
2,5 µl	8-MOP
10 µl	2X Multipleks Master Miks
0,5 µL	STD IC (İnternal Kontrol)
17 µl	Toplam PCR Master Miks Hacmi

Hazırlanan master miks çok kısa vortekslendi ve kısa süreli santrifüj edildi. Daha sonra aşağıda gösterildiği şekilde, her bir 0,2'lik PCR tüpüne 17 µl miks dağıtıldı ve her bir tüpe de 3 µl izole edilen örnek DNA'sı eklendi. Her bir çalışmada pozitif ve negatif kontrollerde aynı şekilde çalışıldı.

17 µl	PCR Master Miks
3 µl	Örnek nükleik asit
20 µl	Toplam reaksiyon hacmi

PCR amplifikasyonu, AEAH'nin bünyesinde bulunan AB 2720 ThermalCycler (AppliedBiosystems, Kaliforniya, ABD) cihazıyla yapıldı. Bu amaçla PCR karışımlarına kit üreticisi firma tarafından belirlenen ısı ve döngü koşulları uygulandı (Tablo 3.3).

Tablo 3.3. Multipleks PCR Protokolü

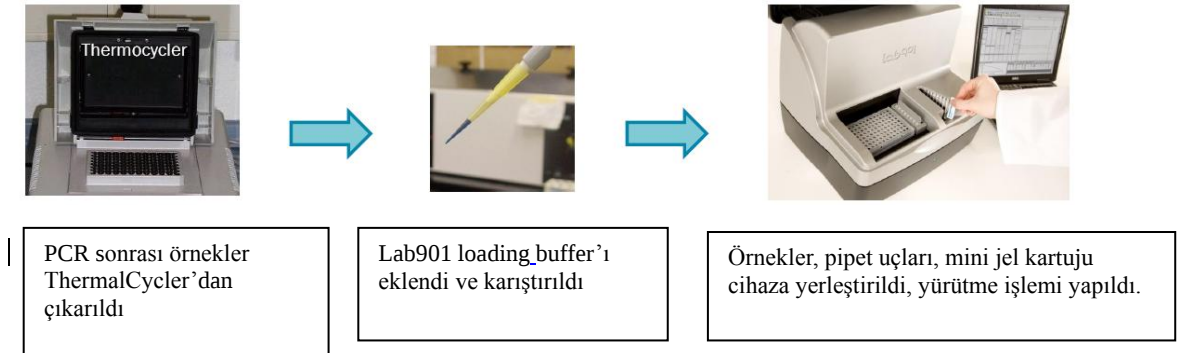
Basamak	Döngü Sayısı	Sıcaklık	Süre
1	1	94 °C	15:00 dakika
2	40	Denatürasyon 94 °C	00:30 saniye
		Primer bağlanması 63 °C	01:30 dakika
		Primerlerin uzatılması 72 °C	01:30 dakika
	1	72 °C	10:00dakika

Multipleks PCR'ın duyarlılık için saptama sınırı *M. hominis*, *C. Trachomatis*, *N. gonorrhoeae* ve *U. urealyticum* için 10 kopya/reaksiyon iken, *T. vaginalis* ve *M. genitalium* için 100 kopya/reaksiyondur.

3.4.3. Multipleks PCR Ürünlerinin Görüntülenmesi ve Analizi (ScreenTape Sistemi)

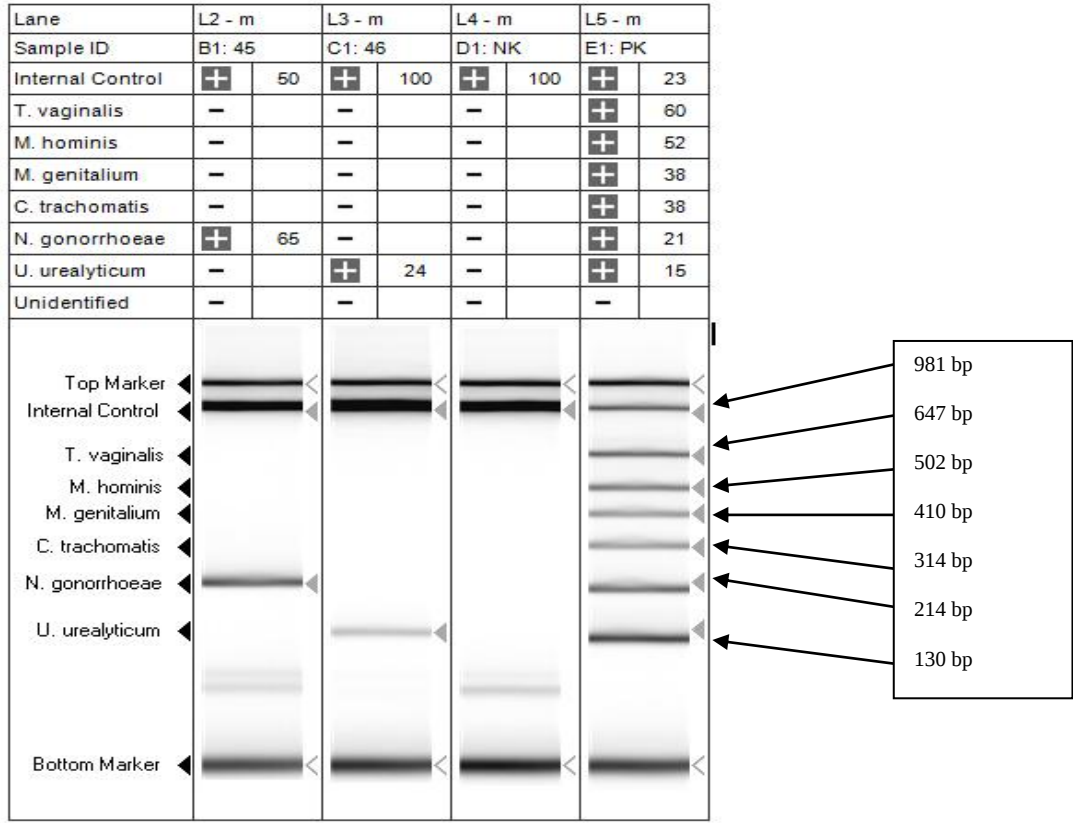
Amplifikasyon sonrası PCR ürünleri Lab901 (TapeStation) cihazında DS12 ScreenTape kartuajlarında yürütüldü ve sonuçlar cihaza bağlı bilgisayardaki ScreenPlex® yazılımı ile otomatik olarak analiz edildi.

Firma tarafından ayrı olarak sağlanan DNA uzunluk referans solüsyonu (Ladder) 8 µl olacak şekilde 0,2 ml PCR tüpüne konuldu. Yine firma tarafından ayrı olarak sağlanan yükleme solüsyonu (Loading Buffer) 6 µl ve elde edilen PCR ürünü 2 µl olmak üzere toplamda 8 µl PCR ürün hacmi, 0,2 ml PCR tüplerinde hazırlandı ve yürütme işlemi gerçekleştirildi. Şekil 3.5'de TapeStation (lab901) cihazının işlem basamakları görülmektedir.



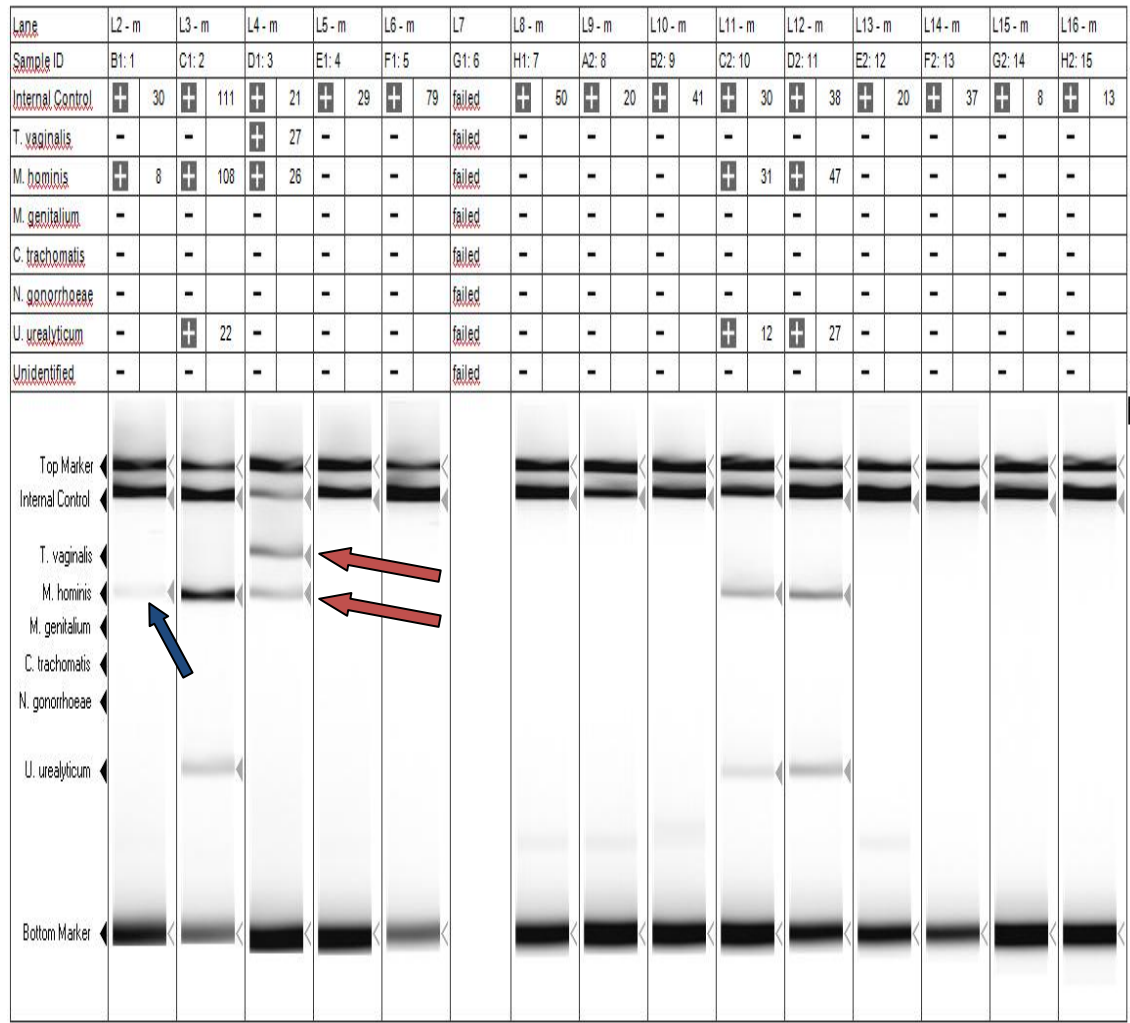
Şekil 3.5. ScreenTape® Analiz Sistemi

Yürütme işlemi sonunda ScreenPlex® bilgisayar yazılım sistemi kullanılarak sonuçlar değerlendirildi. Multipleks PCR ile çalışılan tek etken pozitif veya birden fazla etken pozitif olan hasta sonuçları Resim 3.6 ve 3.7'de görülmektedir.



Lane 2, tek *N. gonorrhoeae* pozitif örneği, Lane 4(NK) Negatif Kontrol, Lane 5(PK) Pozitif kontrol ve etkenlerin baz uzunluklarını, İnternal Kontrol için 981 baz çifti (bp), *T. vaginalis* için 647 bp, *M. hominis* için 502 bp, *M. genitalium* için 410 bp, *C. trachomatis* için 314 bp, *N. gonorrhoeae* için 214 bp, *U. Urealyticum* için 130 bp

Resim 3.6. Multipleks PCR tek etken pozitif hasta örneği, pozitif kontrol ve negatif kontrol görünümleri ve etkenlerin değerlendirilmesi için kullanılan baz uzunlukları



Lane 4 (kırmızı oklar) *T.vaginalis* ve *M. hominis* pozitif örneği göstermektedir. Lane 8 negatif örneği, Lane 2 (mavi ok) sadece *M. hominis* pozitif örneği göstermektedir.

Resim 3.7. Tek ve çok etkenli örneklerin Multipleks PCR sonuçları

3.5. Verilerin İstatistiksel Değerlendirilmesi

Çalışmamızda elde ettiğimiz veriler, SPSS for Window (version 17) istatistik paket programı ile analiz edildi. Risk faktörleri ve hastalık arasındaki ilişkilerin değerlendirilmesinde ki-kare testi (Pearson ki-kare ve Fisher's exact test birlikte) kullanıldı. Tanı yöntemlerine ait sonuçların uyumlarının değerlendirilmesinde Kappa istatistiği kullanıldı. Kappa istatistiği sonuçları Tablo 3.4'de gösterilen kriterlere göre değerlendirildi. Tanı yöntemlerine ait duyarlılık ve özgüllük oranları hesaplandı. $p < 0.05$ olarak bulunan sonuçlar anlamlı kabul edildi.

Tablo 3.4. Kappa istatistiği değerlendirilmesinde kullanılan kriterler

Kappa Değeri	Testlerin Uyumu
< 0,01	Çok Zayıf
0,21- 0,40	Orta
0,41- 0,60	Makul
0,61- 0,80	İyi
0,81-1,00	Çok İyi

4. BULGULAR

Çalışmamızda; 6 farklı CYBE etkeni olan *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma genitalium*, ve *Trichomonas vaginalis* tanımlanmasında kullanılan konvansiyonel yöntemler ve yeni bir yöntem olan DPO™ tabanlı Multipleks PCR yönetiminin karşılaştırılması, testler arasında uyumun değerlendirilmesi, duyarlılık, özgüllük ve prediktif değerlerinin karşılaştırılması yapıldı. Aynı zamanda servikal/üretral örneklerle çalışılan testlerde pozitif çıkan *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium* ve *Trichomonas vaginalis* etkenleri, non-invaziv ve farklı bir örnek türü olarak idrar örneklerinde de DPO™ tabanlı Multipleks PCR yönetimi ile çalışıldı ve sonuçlar karşılaştırıldı. Çalışma grubunda enfeksiyonlarla ilgili bazı risk faktörleri de değerlendirildi.

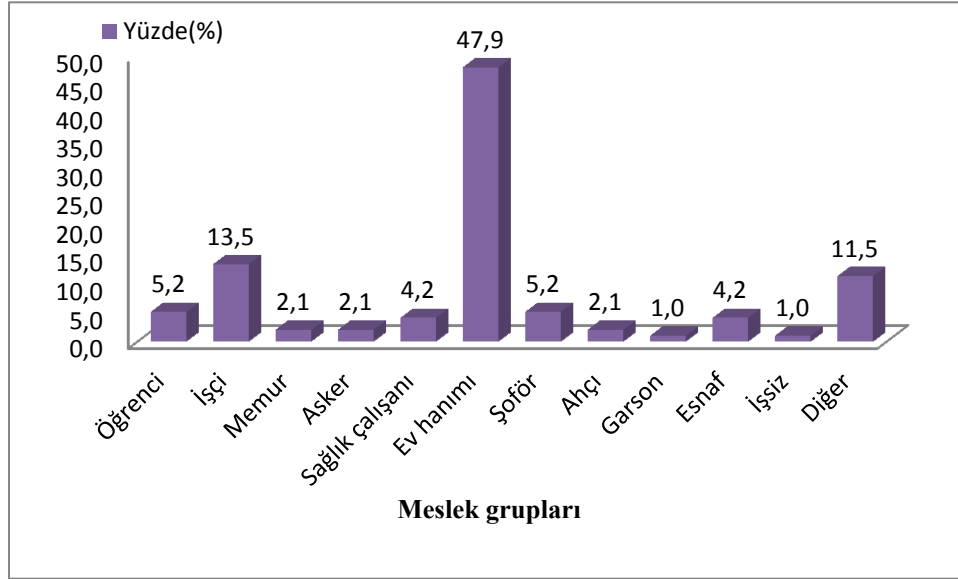
Çalışmaya semptomatik 50 kadın ve 46 erkek hasta olmak üzere toplam 96 hasta dahil edildi. Çalışma grubuna alınan hastaların yaşları 16 ile 54 arasında değişmekteydi ve yaş ortalaması $31,71 \pm 8,98$ standart sapma (SD) yıl olarak saptandı. Kadın hastaların yaşı 18-50 arasında ve yaş ortalaması $32,52 \pm 8,52$ (SD) yıl iken, erkek hastaların yaşı 16-54 arasında ve yaş ortalaması $30,83 \pm 9,46$ (SD) yıl olarak bulundu.

Çalışmaya alınan hastaların %24'ü 15-24 yaş grubundaydı ve en fazla hasta bu yaş grubundaydı. 25-29 yaş grubu %20,8 ile hasta sayısının yüksek olduğu ikinci yaş grubu olarak gözlendi. Olguların %38,5'i ilkökul mezunu olup, yüksek öğrenim eğitimi alan bir kişi vardı. Hastaların %70,8'i evli, %24'ü bekar ama cinsel aktif idi. Hastaların %56,3'ü orta düzey gelire sahip olarak bulundu (Tablo 4.1).

Hastaların meslek gruplarına göre dağılımında, kadın hastaların %47,9'u ev hanımı, erkek hastaların ise %13,5'i işçi, %5,2'si öğrenci, %5,2'si şofördü. Sadece bir tane işsiz erkek hasta mevcuttu (Grafik 4.1).

Tablo 4.1. Çalışmaya alınan tüm hastaların sosyodemografik özellikleri

Sosyodemografik özellikler	Sayı(n)	Yüzde(%)
Yaş Grupları(Yıl)		
15-24	23	24,0
25-29	20	20,8
30-34	18	18,8
35-39	15	15,6
40-44	9	9,4
45-49	8	8,3
50-54	3	3,1
Eğitim Durumu		
Okuma-yazma bilmiyor	3	3,1
Sadece okuma-yazma biliyor	1	1,0
İlkokul	37	38,5
İlköğretim ve dengi	17	17,7
Lise ve dengi	19	19,8
Yüksekokul veya fakülte	14	14,6
Lisansüstü-doktora	1	1,0
Cevap yok	4	4,2
Medeni hal ve cinsel aktiflik durumu		
Evli	68	70,8
Cinsel aktif	23	24,0
Cinsel aktif değil	2	2,1
Cevap yok	3	3,1
Sigara Kullanımı		
Evet	33	34,4
Hayır	63	65,6
Gelir Düzeyi (TL)		
Düşük(0-1000)	19	19,8
Orta(1001-2000)	54	56,3
İyi (2001-4000)	18	18,8
Yüksek(>4000)	1	1,0
Cevap yok	4	4,2



Grafik 4.1. Çalışmaya katılan tüm hastaların meslek gruplarına göre dağılımı

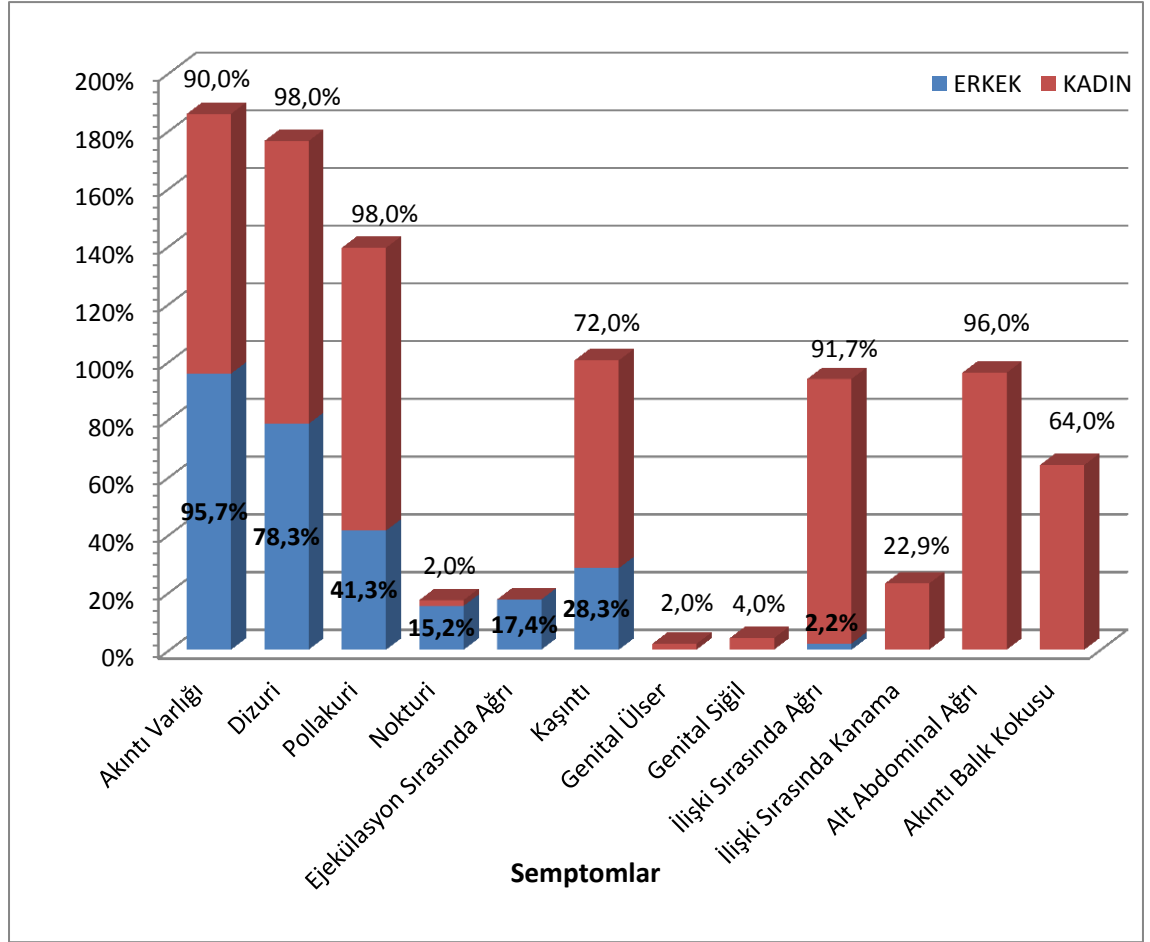
Kadın hastalarda infertilite bulunmazken, erkek hastaların 27'sinde (%58,7) infertilite mevcuttu. Cinsel yolla bulaşan enfeksiyon öyküsü olan 6 hastadan, 2'si kadın ve HPV enfeksiyonu geçirdiklerini belirtirken, 4 erkek hasta bilgi vermemiştir.

Hastaların semptomları incelendiğinde; kadınların 44'ünde (%88), erkeklerin 14'ünde (%30,4) benzer semptomlar önceden de mevcuttu. Eşi olan 48 kadının 4'ünde (%8,3), 46 erkek hastanın 8'inde (%17,4), eşlerinin de benzer semptomlara sahip olduğu öğrenildi. Eşlerin tedavisi sorgulandığında, kadın hasta eşlerinden birinin (%2,1), erkek hasta eşlerinden 3'ünün (%6,5) tedavi olduğu belirtildi. Hastaların cinsel yaşam davranışlarına göre bazı özellikleri Tablo 4.2'de özetlenmiştir.

Tablo 4.2. Tüm hastaların bazı cinsel yaşam davranışlarına göre dağılımı

Cinsel yaşam özellikleri	Kadın (n:50)		Erkek(n:46)	
Şüpheli İlişki	n	%	n (%)	%
Evet	0	0	33	71,7
Hayır	50	100	13	28,3
Cinsel eş Sayısı				
Bir	47	94	17	37
Birden Fazla	0	0	28	60,9
Yok	3	6	1	2,2
Seksüel Aktivite				
Haftada 3-5	0	0	1	2,2
Haftada 1-2	2	4	19	41,3
Ayda 3-4	9	18	8	17,4
Ayda 1-2	36	72	8	17,4
Ayda 1den az	0	0	7	15,2
Hiç	3	6	3	6,5
Gebeliği Önleyici Yöntem				
RIA	11	22	0	0,0
Kondom	4	8	3	6,5
Oral Kontraseptif	0	0	0	0,0
Geri Çekme	21	42	0	0,0
Kullanmıyor	14	28	34	73,9
Cevap Yok	0	0	9	19,6
Genital Temizlik				
Hergün	1	2	7	15,2
İki Günde Bir	0	0	24	52,2
Haftada Bir	48	96	11	23,9
Diğer	1	2	4	8,7

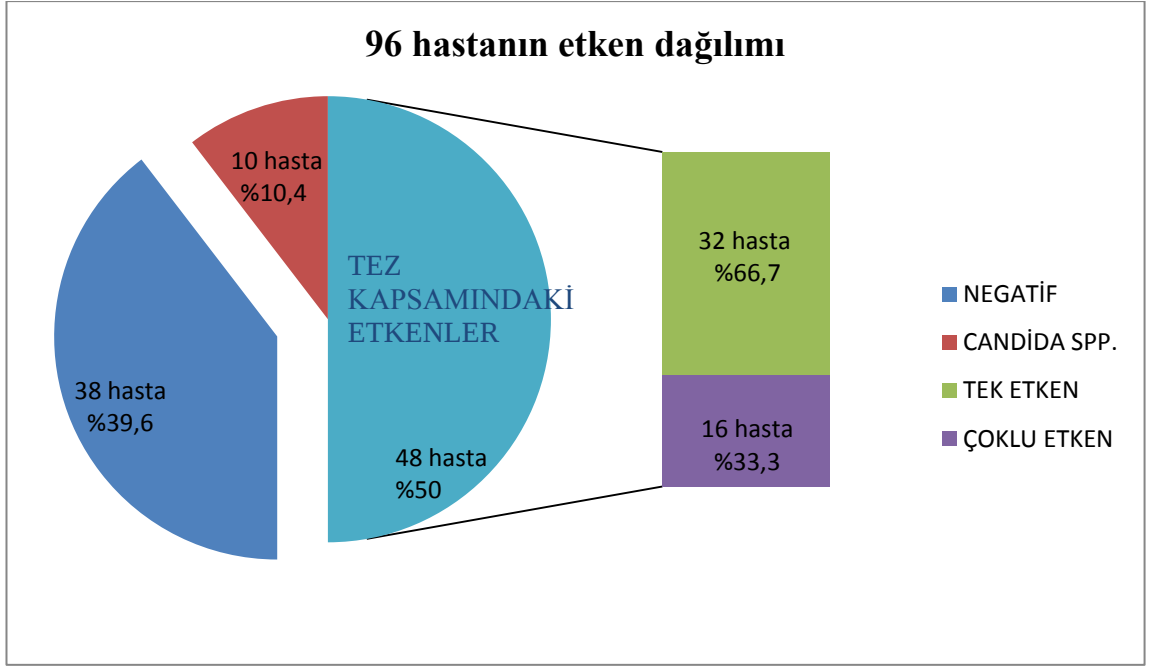
Akıntı varlığı, tüm hastalar arasında %92,7 (n:89) ile başvuru şikayetlerinin başında gelmekteydi. Bunu %88,5 (n:85) ile dizuri, %70,8 (n:68) ile pollaküri, %51 ile (n:49) kaşıntı, %46,9 (n:45) ile cinsel ilişki sırasında ağrı izledi. 50 kadın hastanın 49'unda (%98) dizuri ve pollaküri mevcutken, 48'inde (%96) alt abdominal ağrı, 44'ünde (%91,7) cinsel ilişki sırasında ağrı, 45'inde (%90) akıntı varlığı izlendi. 46 erkek hastanın 44'ünde (%95,7) akıntı, 36'sında (%78,3) dizuri şikayeti mevcuttu. Kadın hastaların tümünde birden fazla semptom mevcutken, erkek hastaların 3'ünde tek semptom akıntı, birinde tek semptom kaşıntıydı (Grafik 4.2).



Grafik 4.2. Kadın ve erkek hastalarda görülen semptomların dağılımı

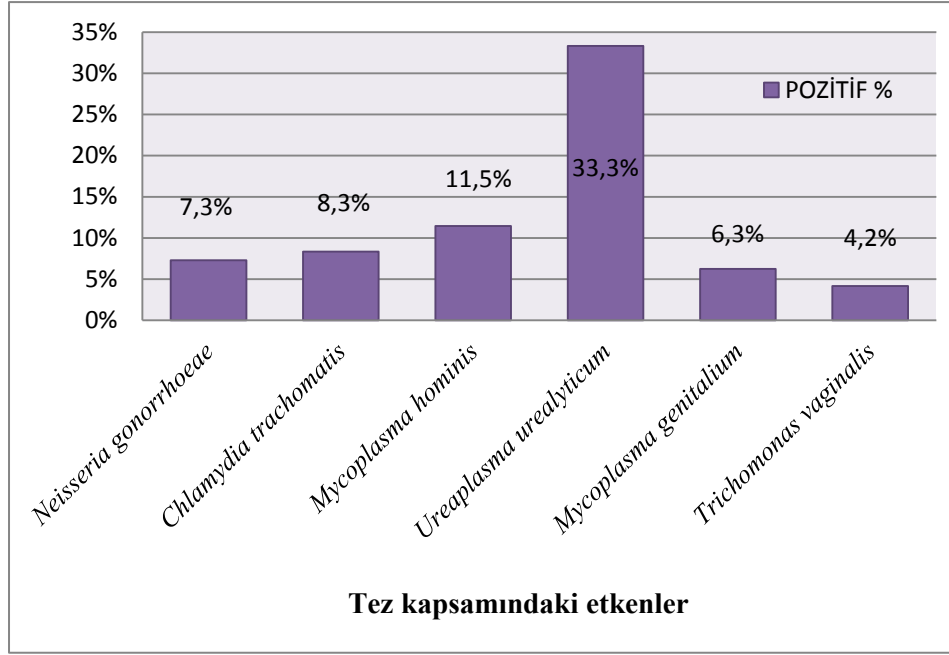
Çalışmamıza katılan 96 hastanın 38'inde (%39,6) çalışılan tüm yöntemler ile herhangi bir etken saptanmadı. Negatif bulunan 38 hastanın 26'sı (%68,4) kadın iken 12'si (%31,6) erkekti. Pozitiflik saptanan 58 hastanın 10'unda sadece *Candida* spp. üremesi görüldü. Sonuçlar tez kapsamında yer alan etkenlere göre değerlendirildiğinde, 96 hastanın 48'i (%50) kullanılan yöntemlerden **herhangi birisiyle en az bir etken yönünden pozitif** olarak bulundu. Bu 48 hastanın 32'sinde (%66,7) tek etken pozitifliği mevcutken, 16'sında (%33,3) çoklu etken pozitifliği saptandı (Grafik 4.3).

Tüm hastalar arasında, tez kapsamındaki etkenler değerlendirildiğinde % 33,3 (32/96) oranında tek bir etken pozitif olarak saptanırken, %16,7 (16/96) oranında çoklu etken pozitifliği saptandı. Bu etkenlere ek olarak ayrıca tüm hastalar arasında %10,4 oranında (10/96) *Candida* spp. üremesi görüldü.



Grafik 4.3. Hasta sonuçlarının negatiflik, pozitiflik, tek etken ve çoklu etken saptanma durumuna göre dağılımı

Tez kapsamındaki etkenlerin görülme sıklığına baktığımızda; 96 hastadan alınan örneklerden 7'sinde (%7,3) *N. gonorrhoeae*, 8'inde (%8,3) *C.trachomatis*, 4'ünde (%4,2) *T. vaginalis*, 6'sında (%6,3) *M. genitalium*, 11'inde (%11,5) *M. hominis*, 32'sinde (%33,3) *U. urealyticum* kullanılan bir veya iki yöntem ile pozitif olarak saptandı. En sık görülen etken *U. urealyticum* iken ikinci sırayı *M. hominis* takip etti (Grafik 4.4).



Grafik 4.4. Tez kapsamındaki etkenlerin görülme sıklığı

Tez kapsamındaki etkenlerden ayrı olarak, 10 kadın hastada tek başına izole edilen *Candida spp.*'leri değerlendirdiğimizde, çalışmamıza katılan 50 kadın hastanın 10'nundan (%20) izole edilen mayaların 7'si (%14) *non albicans candida spp.*, 3'ü (%6) *C. albicans* olarak bulundu. Benzer olarak, 50 kadının 2'sinde (%4) *Gardnerella vaginalis* üremesi gözlemlendi, farklı olarak *Gardnerella vaginalis*'in diğer etkenlerle birlikteliği de vardı.

Tek etken ve çoklu etken pozitifliği görülme durumuna baktığımızda; tek etken pozitifliği bulunan 32 hastada en fazla karşımıza çıkan etken % 59,4 ile (19/32) *U. urealyticum* olarak saptandı. En fazla çoklu olarak görülen etken yine 16 hastanın 13'ünde de görülen *U. urealyticum* idi. Etkenlerin tek başına ve çoklu etken olarak saptanma durumu Tablo 4.3'te gösterilmiştir.

Tablo 4.3. Etkenlerin tek başına ve çoklu etken olarak saptanma durumu

Etkenler	Tek etken olarak n:32 hastada	Çoklu etken olarak n:16 hastada
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	4	3
<i>Chlamydia trachomatis</i>	4	4
<i>Mycoplasma hominis</i>	1	10
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	→ 19	13 ←
<i>Mycoplasma genitalium</i>	3	3
<i>Trichomonas vaginalis</i>	1	3

Her etkeni kendi içinde karşılaştırdığımızda ise; *N. gonorrhoeae* 7 hastanın 4'ünde tek etken olarak saptanırken, 3'ünde (%42,9) diğer etkenlerle birlikteliği bulundu. Aynı şekilde, *C. trachomatis* 8 hastanın 4'ünde tek etken, 4'ünde (%50) birden fazla etken ile beraber pozitiflik gösterdi. *T. vaginalis* 4 hastanın 1'inde tek başına etkenken, 3 hastada (%75) çoklu etken olarak görüldü. *M. genitalium* 6 hastanın 3'ünde tek başına etken olarak saptanırken, 3 hastada (%50) çoklu etken olarak saptandı. Tek başına *M. hominis*, sadece multipleks PCR yöntemi ile pozitif bulunan 1 kadın hastada mevcuttu. *M. hominis* 11 pozitif hastanın 10'unda (%90,9) çoklu etken olarak görüldü. *U. urealyticum* pozitif olan 32 hastanın 19'unda tek etken olarak bulunurken, 13 hastada (%40,6) çoklu etken olarak saptandı. Buna göre; etken baz alındığında *M. hominis* %90,9 oranı ile en fazla çoklu olarak saptanan etkendi, bunu %75 ile *T. vaginalis* izledi.

Çoklu etken pozitifliği olan 16 hasta değerlendirildiğinde, 2 etken pozitifliği saptanan hastaların 10 (%62,5) , 3 etken pozitifliği bulunan hastaların 6 (37,5) olduğu bulundu. Çoklu etken pozitifliği bulunan hastaların açık etken profilleri Tablo 4.4'te gösterilmektedir.

Tablo 4.4. Pozitiflik saptanan hastalarda gözlenen çoklu etken profilleri

Hastalarda görülen çoklu etkenler	n(sayı)	Cinsiyet
<i>N. gonorrhoeae</i> + <i>C. trachomatis</i>	1	E
<i>N. gonorrhoeae</i> + <i>M. genitalium</i> + <i>Ureplasma urealyticum</i>	1	E
<i>N. gonorrhoeae</i> + (<i>U. urealyticum</i>)*	1	E
<i>C. trachomatis</i> + <i>M. genitalium</i>	1	E
<i>C. trachomatis</i> + <i>U. urealyticum</i>	1	E
<i>C. trachomatis</i> + <i>Gardnerella vaginalis</i> + (<i>U. urealyticum</i>)*	1	K
<i>T. vaginalis</i> + <i>M. hominis</i>	1	K
<i>T. vaginalis</i> + <i>M. hominis</i> + (<i>U. urealyticum</i>)*	1	K
<i>T. vaginalis</i> + (<i>M. hominis</i> poz + <i>U. urealyticum</i>)*	1	E
<i>M. hominis</i> + <i>U. urealyticum</i> + (<i>M. genitalium</i>)*	1	K
<i>M. hominis</i> + <i>Gardnerella vaginalis</i> + (<i>U. urealyticum</i>)*	1	K
<i>M. hominis</i> + (<i>U. urealyticum</i>)*	4	3 E, 1K
(<i>M. hominis</i> + <i>U. urealyticum</i>)*	1	K

* Etkenlerin çalışılan testlerden herhangi birinde bulunan pozitifliğini göstermektedir.

Bir hastada *N. gonorrhoeae* 'ye ek olarak sadece idrar örneğinde multipleks PCR ile *C. trachomatis* pozitifliği bulunmaktaydı. Bu nedenle olası pozitif olarak düşünülen bu hastada sadece *N. gonorrhoeae* pozitifliği dikkate alınarak tek etken pozitif hasta grubuna dahil edildi.

4.1. *Neisseria gonorrhoeae* Bulguları

N. gonorrhoeae tanısı için; direkt mikroskopi, kültür, multipleks PCR (akıntı örneğinde) yöntemleri çalışıldı. Ayrıca, bu yöntemlerde pozitif bulunan hastaların idrar örneklerinden multipleks PCR tekrar çalışıldı.

96 hastanın 7'sinde (%7,3) tüm çalışılan testler ile *N. gonorrhoeae* pozitifliği saptandı. Kalan 89 hasta (%92,7) çalışılan tüm testler ile negatif olarak bulundu. Altın standart yöntem olarak kültür yöntemi kabul edildi. Gerçek pozitif sayısı *N. gonorrhoeae* için 7 olarak belirlendi. Buna göre, direkt mikroskopi ve multipleks PCR (akıntı örneği) yöntemi değerlendirildiğinde; her iki yöntemin de özgüllüğü %100, duyarlılığı %100, pozitif prediktif değeri(PPD) %100 ve negatif prediktif değeri (NPD) %100 olarak bulundu. Yöntemlerin p değerleri karşılaştırıldığında hepsi istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p=0,000). Testler arasında tam bir uyum mevcuttu (Kappa=1).

Ayrıca, idrar örneklerinde çalışılan multipleks PCR ile gerçek pozitif bulunan hastalar %100 (7/7) aynı bulundu.

Neisseria gonorrhoeae pozitif bulunan hastaların bazı özelliklerinin ve risk faktörlerinin değerlendirilmesi: Pozitiflik saptanan hastaların bazı demografik özelliklerine bakıldığında, hastaların tümü erkekti. Etken pozitifliği saptanan kadın ve erkek hastalar arasında istatistiksel olarak anlam bulundu ($p=0,004$). Erkek hastalar arasında ($n:46$) *N. gonorrhoeae* saptanma oranı %15,2'ydi. Yaş gruplarına göre dağılıma bakıldığında, 25-29 yaş aralığında sadece erkek hastaları değerlendirdiğimizde, 9 erkek hastanın 3'ünde (%33,3) gonokok pozitifliği görüldü. 15-30 yaş grubu aralığında 23 hastanın 5'i (%21,7) pozitif. Yaş gruplarına bakıldığında **tüm hastalar** arasında istatistiksel olarak herhangi bir anlam bulunmadı (Tablo 4.5).

Tablo 4.5. *N. gonorrhoeae* pozitifliği saptanan hastaların bazı demografik ve cinsel davranış özelliklerine göre dağılımı ($n:96$)

Hastaların özellikleri	Pozitif		Negatif		P	TRR	%95 GA
	n	(%)	n	(%)			
Cinsiyet							
Kadın	0	0	50	100	0,004		
Erkek	7	15,2	39	84,8			
Yaş Grupları(Yıl)							
15-24	2	8,7	21	91,3	0,522		
25-29	3	15,0	17	85,0			
30-34	0	0	18	100			
35-39	0	0	15	100			
40-44	1	11,1	8	88,9			
45-49	1	12,5	7	87,5			
50-54	0	0	3	100			
Şüpheli İlişki							
Evet	6	18,2	27	81,8	0,006 F	13,778	1,581-120,032
Hayır	1	1,6	62	98,4			
Çoklu Cinsel eş							
Evet	6	21,4	22	78,6	0,002 F	18,273	2,084-160,213
Hayır	1	1,5	67	98,5			
İnfertilite							
Var	5	18,5	22	81,5	0,018 F	7,614	1,378-42,057
Yok	2	2,9	67	97,1			

F, Fisher's exact test ile hesaplanan p değeridir. TRR, Tahmini Rölatif Risk, GA, Güven Aralığı

Hastaların eğitim, meslek, medeni durumları ve diğer demografik özelliklerine göre gonokok pozitifliğinde anlamlı bir farklılık olmadığı belirlendi ($p>0,05$). 27 infertil erkek hastanın 5'inde (%18,5), infertil olmayan 19 hastanın 2'sinde (%10,5) gonokok pozitifliği bulundu. İnfertilite yönünden tüm hastalara bakıldığında istatistiksel olarak anlamlılık bulundu ($p=0,018$). Gonokok pozitif hastalarda infertilite öyküsü olanların olmayanlara göre tahmini rölatif riski (TRR) 7,61 bulundu [%95 Güven aralığı (GA)= 1,378-42,057]. İnfertil hastaların gonore olma olasılıkları, infertil olmayanlara göre 7,61 kat fazla bulundu.

Gonokok pozitif olan 1 hasta ise son üç aydır cinsel eşinin olmadığını fakat en son ilişkisinin rasgele olduğunu belirtti. Cinsel eş sayısı dikkate alındığında gonore pozitifliği ile istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p=0,002$). Şüpheli cinsel ilişkisi olanların gonokok hastalığına yakalanma olasılığının, şüpheli cinsel ilişkisi olmayanlara göre 13,78 (TRR) kat fazla olduğu bulundu ($p=0,006$, %95 GA=1,581-120,032) (Tablo 4.5).

Semptomlara göre gonore incelendiğinde; yalnızca noktüri semptomu ile gonore saptanması arasında istatistiksel olarak anlamlılık bulundu. Noktüri görülmesi gonorede 12,6 (TRR) kat fazla bulundu ($p=0,012$, %95 GA= 2,194-72,350).

4.2. *Chlamydia trachomatis* Bulguları

C.trachomatis tanısı için DFA, multipleks PCR (akıntı örneğinden) yöntemleri çalışıldı. Ayrıca, bu yöntemlerde pozitif bulunan hastaların idrar örnekleri multipleks PCR ile tekrar çalışıldı. En az iki yöntemle pozitiflik saptanması durumunda örnek *C. trachomatis* yönünden pozitiflik olarak değerlendirildi. 96 hastanın 8'inde (%8,33) çalışılan her üç test ile *C.trachomatis* pozitifliği saptandı. Kalan 88 hasta (%90,6) DFA ve multipleks PCR (akıntı örneğinden) testleri ile negatif olarak bulundu. Ancak, negatif bulunan hastalardan birinde gonokok pozitifliği bulunduğu için idrar örneğinde multipleks PCR çalışılırken örnekte *C. trachomatis* de tesadüfen saptandı. Sadece multipleks PCR (idrar) ile reaktif olan bu hasta gonokok pozitifliği de gösterdiğinden şüpheli pozitif olarak değerlendirildi. Multipleks PCR (akıntı) ve DFA yöntemi karşılaştırıldığında, pozitif olarak değerlendirilen tüm örnekler her iki test ile de

pozitifdi. DFA yöntemi esas alındığında multipleks PCR yönteminin özgüllüğü %100, duyarlılığı %100, PPD %100 ve NPD %100 olarak bulundu. DFA yöntemi ile multipleks PCR (akıntı) yöntemi arasında %100 bir uyum vardı. (Kappa=1, p=0,00).

C. trachomatis pozitif bulunan hastaların bazı özelliklerinin ve risk faktörlerinin değerlendirilmesi: 8 pozitif hastanın biri kadın, 7'si erkekti. Klamidya pozitiflik oranı kadın hastalar içinde %2, erkek hastalar içinde %15,2 olarak bulundu. Bir erkek hasta sadece idrar örneğinden çalışılan multipleks PCR ile klamidya pozitif olarak bulundu ve şüpheli pozitif olarak düşünüldüğü için bu hasta istatistiksel hesaplamalara dahil edilmedi. Erkek ve kadın hastalarda klamidya pozitifliği yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (p=0,026). Yaş gruplarına, infertilite varlığına, şüpheli cinsel ilişki ve çoklu cinsel eşe sahip olma durumuna göre değerlendirildiğinde herhangi bir istatistiksel anlamlılık bulunmadı (Tablo 4.6).

Tablo 4.6. C. trachomatis pozitifliği saptanan hastaların bazı demografik ve cinsel davranış özelliklerine göre dağılımı

Hastaların özellikleri	Pozitif		Negatif		P	TRR	%95 GA
	n	(%)	n	(%)			
Cinsiyet							
Kadın	1	2	49	98,0	0,026 F	0,114	0,013-0,964
Erkek	7	15,2	39	84,8			
Yaş Grupları(Yıl)							
15-24	1	4,3	22	95,7	0,455		
25-29	3	15,0	17	85,0			
30-34	0	0	18	100			
35-39	2	13,3	13	86,7			
40-44	2	22,2	7	77,8			
45-49	1	12,5	7	87,5			
50-54	0	0	3	100			
Şüpheli İlişki							
Evet	4	12,1	29	87,9	0,440	2,034	0,475-8,721
Hayır	4	6,3	59	93,7			
Çoklu Cinsel Eş							
Evet	4	14,3	24	85,7	0,226 F	2,667	0,617-11,519
Hayır	4	5,9	64	94,1			
İnfertilite							
Var	4	14,8	23	85,2	0,215	2,826	0,653-12,233
Yok	4	5,8	65	94,2			

4.3. *Mycoplasma hominis* Bulguları

M. hominis ve *U. urealyticum* etkenlerinin tanısı için, kültür tabanlı bir yöntem (MYCOFAST® EvolutionN 3) ve multipleks PCR (akıntı örneğinde) olmak üzere iki yöntem çalışıldı. En az bir test ile pozitif bulunan örnek olası pozitif (n:3), her iki testle de pozitif olarak bulunan örnekler pozitif (n:11, %11,5) olarak değerlendirildi. Kültür tabanlı yöntem ile 9 hastada (%9,4), multipleks PCR yöntemi ile 10 hastada (%10,4) *M. hominis* pozitifliği saptandı (Tablo 4.7).

Kültür yöntemiyle pozitif bulunup multipleks PCR yöntemi ile negatif sonuç alınan hasta sayısı 1 olarak bulundu. Multipleks PCR yöntemi ile pozitif bulunup kültür tabanlı yöntem ile negatif bulunan örnek sayısı ise 2 olarak bulundu. 85 hastada her iki yöntem ile de negatif sonuç elde edildi (Tablo 4.7).

Tablo 4.7. *M. hominis* sonuçlarının kültür tabanlı yöntem ve multipleks PCR (akıntı) ile karşılaştırılması

TEST	KÜLTÜR TABANLI(+)	KÜLTÜR TABANLI(-)	TOPLAM
MULTİPLEKS PCR (+)	8	2	10
MULTİPLEKS PCR(-)	1	85	86
TOPLAM	9	87	96

$X^2 = 65,535$ Fisher's exact $p=0,000$

Kültür tabanlı yöntem baz alındığında; multipleks PCR testi için duyarlılık % 88,9, özgüllük %97,7, PPD %80,0, NPD %98,8 olarak bulundu. Multipleks PCR yöntemi baz alındığında ise; kültür yöntemi için duyarlılık %80, özgüllük %98,8, PPD %88,9, NPD % 97,7 olarak bulundu. İki tanı testi arasında %96,9 oranında bir uyum görüldü. (Kappa= 0,825, $p=0,000$).

En az bir yöntemle pozitif bulunan 11 olgu referans alınarak testler değerlendirildiğinde; multipleks PCR'ın duyarlılığı % 90,1 (10/11), özgüllüğü %100 (85/85), PPD'si %100 (10/10), NPD'si %98,8 (85/86) olarak bulundu. Kültür tabanlı yöntemin ise duyarlılığı %81,8 (9/11), özgüllüğü %100 (85/85), PPD'si %100 (9/9), NPD'si %97,7 (85/87) olarak bulundu.

Her iki şekilde yapılan değerlendirmelere göre; multipleks PCR'ın duyarlılığı %88,9 ile %90,1 arasında, kültürün duyarlılığı ise %80 ile %81,8 arasında değişmekteydi.

M. hominis pozitifliği bulunan hastaların bazı özelliklerinin ve risk faktörlerinin değerlendirilmesi: Pozitif olarak değerlendirilen 11 hastanın 7'si kadın (kadın hastaların %14'ü), 4'ü (erkek hastaların %8,7) erkekti. Değerlendirilen özelliklerde herhangi bir istatistiksel anlamlılık bulunmadı (Tablo 4.8).

Tablo 4.8. *M. hominis* pozitifliği saptanan hastaların yaş grupları, cinsiyet ve bazı cinsel yaşam özelliklerine göre dağılımı

Hasta özellikleri	Olası Pozitif		Pozitif		Negatif		P
	n	(%)	n	(%)	n	(%)	
Cinsiyet							
Kadın	2	4	5	10	43	86	0,71
Erkek	1	2,2	3	6,5	42	91,3	
Yaş Grupları(Yıl)							
15-24	0	0,0	1	4,3	22	95,7	0,91
25-29	1	5,0	2	10	17	85	
30-34	1	5,6	3	16,7	14	77,8	
35-39	1	6,7	1	6,7	13	86,7	
40-44	0	0,0	1	11,1	8	88,9	
45-49	0	0,0	0	0	8	100	
50-54	0	0,0	0	0	3	100	
Şüpheli İlişki							
Evet	1	3	3	9,1	29	87,9	0,98
Hayır	2	3,2	5	7,9	56	88,9	
Çoklu Cinsel eş							
Evet	1	3,6	3	10,7	24	85,7	0,85
Hayır	2	2,9	5	7,4	61	89,7	
İnfertilite							
Var	1	3,7	2	7,4	24	88,9	0,96
Yok	2	2,9	6	8,7	61	88,4	

Semptomlara göre değerlendirdiğimizde *M. hominis* pozitifliği ile akıntı varlığı ($p= 0,023$), akıntıda balık kokusu ($p=0,011$), genital ülser ($p=0,004$), genital siğil ($p=0,001$) arasında istatistiksel anlamlılık bulundu.

4.4 *Ureaplasma urealyticum* Bulguları

U. urealyticum etkenlerinin tanısı için, kültür tabanlı bir yöntem (MYCOFAST® EvolutionN 3) ve multipleks PCR (akıntı örneğinde) olmak üzere iki yöntem çalışıldı. Kültür tabanlı yöntem ile 18 hastada (%18,75), multipleks PCR yöntemi ile 28 hastada (%29,2) *U. urealyticum* pozitifliği saptandı. 18 hasta iki yöntemden birinde pozitif olarak gözlemlendi. Toplam 32 hasta (%33,3) bir veya birden fazla tanı testi ile pozitif bulundu. 64 hastada (%64,7) her iki yöntem ile de negatif sonuç elde edildi (Tablo 4.9).

Kültür tabanlı ve multipleks PCR yöntemlerinin sadece birisi ile pozitif bulunan hastalar: olası pozitif (n:18), her ikisi ile de pozitif bulunan hastalar: pozitif (n:14), her iki teknikle de negatif olarak bulunan hastalar negatif (n:64) olarak değerlendirildi.

Tablo 4.9. *U. urealyticum* sonuçlarının kültür tabanlı yöntem ve Multipleks PCR (akıntı) ile karşılaştırılması

TEST	KÜLTÜR TABANLI(+)	KÜLTÜR TABANLI(-)	TOPLAM
MULTİPLEKS PCR (+)	14	14	28
MULTİPLEKS PCR(-)	4	64	68
TOPLAM	18	78	96

$$X^2= 25,339 \quad p= 0,000$$

Kültür tabanlı yöntem baz alındığında; Multipleks PCR testi için duyarlılık % 77,8, özgüllük%82,1, PPD%50, NPD %94,1 olarak bulundu. İki tanı testi arasında uyuma bakıldığında %81,3 oranında bir uyum görüldü (Kappa=0,493, p=0,000).

U. urealyticum pozitifliği bulunan hastaların bazı özelliklerinin ve risk faktörlerinin değerlendirilmesi: *U. urealyticum* olası pozitifliği saptanan 18 hastanın 10'u (%55,6) kadın iken, 8'i (%44,4) erkekti. 14 pozitif hastanın ise 12'si erkek (%85,7), 2'si (%14,3) kadındı. Erkek hastalarda her iki testte pozitif olma oranı daha yüksekken, kadın hastalarda olası pozitiflik oranları da oranları yüksekti. *U. urealyticum* pozitifliği ile kadın ve erkek hastalar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu (p=0,009). Hastaların diğer özellikleri için herhangi bir anlamlılık mevcut değildi (p>0,05) (Tablo 4.10).

Tablo 4.10. *U. urealyticum* pozitifliği saptanan hastaların yaş grupları, cinsiyet ve bazı cinsel yaşam özelliklerine göre dağılımı

Hastaların bazı özellikleri	Olası Pozitif		Pozitif		Negatif		P
	n	(%)	n	(%)	n	(%)	
Cinsiyet							
Kadın	10	20	2	4	38	76	0,009
Erkek	8	17,4	12	26	26	57	
Yaş Grupları(Yıl)							
15-24	2	8,7	7	30	14	61	0,534
25-29	5	25,0	2	10	13	65	
30-34	4	22,2	2	11	12	67	
35-39	3	20,0	1	6,7	11	73	
40-44	3	33,3	0	0	6	67	
45-49	1	12,5	1	13	6	75	
50-54	0	0,0	1	33	2	67	
Şüpheli İlişki							
Evet	5	15,2	8	24	20	61	0,147
Hayır	13	20,6	6	9,5	44	70	
Çoklu Cinsel eş							
Evet	5	17,9	5	18	18	64	0,843
Hayır	13	19,1	9	13	46	68	
İnfertilite							
Var	6	22,2	5	19	16	59	0,622
Yok	12	17,4	9	13	48	70	

Semptomlara göre değerlendirdiğimizde ise; *U. urealyticum* pozitifliği ile pollaküri (p=0,029), ilişki sırasında ağrı (p=0,024), ilişki sırasında kanama (p=0,03), alt abdominal ağrı (p=0,015) semptomları arasında istatistiksel anlamlılık bulundu.

4.5. Kültür tabanlı yöntemle *M. hominis* ve *U. urealyticum* saptanan örneklerde antibiyotik direnç sonuçları

Çalışmaya alınan 96 hastanın 23'ünde (%24) sadece kültür tabanlı yöntemle *M. hominis* ve/veya *U. urealyticum* pozitifliği saptandı. Buna göre; 5 hastada sadece *M. hominis* (%5,2), 14'ünde sadece *U. urealyticum* (%14,6) ve 4'ünde *M. hominis* ve *U. urealyticum* (%4,2) birlikte saptandı. Bu suşların direnç özellikleri kit içerisinde eşzamanlı olarak çalışıldı. 23 suşun 5'inde ROX ve AZM dirençli (%21,7) ve 1'inde

orta duyarlıydı. JM için tüm suşlar duyarlı olarak bulundu. CIP direnci 13 suшта (%56,5) gözlenirken, OFX direnci 8 suшта (%34,8) saptandı. DO için bütün suşlar duyarlıydı. PT için 22 suş hasta (%95,7) duyarlı bulunurken sadece bir suş orta duyarlı olarak gözlemlendi. OFX dirençli bulunan tüm suşlar CIP'ya karşı da dirençliydi. OFX orta duyarlı olan suşlar CIP'e karşı dirençli olarak bulundu. ROX ve AZM direnci gözlenen hastalar aynı hastalardı.

4.6. *Mycoplasma genitalium* Bulguları

M. genitalium tanısında tüm hastaların akıntı örneklerinden konvansiyonel bir yöntem çalışılmadığından sadece multipleks PCR yöntemi çalışıldı. Ek test olarak pozitif çıkan hastaların **idrар** örneklerinde de tekrar multipleks PCR yöntemi çalışıldı. Kullanılan iki yöntemden en az biri ile pozitif saptanan olgular *M. genitalium* yönünden pozitif olarak değerlendirildi. 96 hastanın 6'sında (%6,3) akıntı örneğinden çalışılan multipleks PCR yöntemi ile pozitiflik bulunurken, idrar örneğinden çalışılan multipleks PCR yöntemi ile 5 hasta pozitif olarak saptandı. İdrar örneği negatif saptanan hastanın diğer örnekleri incelendiğinde akıntı örneğinden yapılan multipleks PCR ve kültür testlerinde *M. hominis* ve *U. urealyticum* pozitifliği mevcutken idrardan çalışılan multipleks PCR testinde bu etkenler de negatif olarak bulundu. *M. genitalium* pozitifliği saptanan olgular Talo 4.11 de izlenmektedir. Sadece akıntı örneklerinde multipleks PCR ile pozitif bulunan hastalar için idrarda multipleks PCR çalışıldığından (n:22) testlerin özgüllük ve duyarlılık hesaplamaları yapılamadı.

Tablo 4.11. *M. genitalium* pozitifliği saptanan olgular (n:6)

Hasta cinsiyet	MULTİPLEKS PCR- SÜRÜNTÜ (n:96)	MULTİPLEKS PCR- İDRAR (n:22)
K	POZ	NEG
E	POZ	POZ
E	POZ	POZ
E	POZ	POZ
E	POZ	POZ
E	POZ	POZ

M. genitalium pozitif bulunan hastaların bazı özelliklerinin ve risk faktörlerinin değerlendirilmesi: Pozitiflik saptanan 6 olgudan 1'i kadın (n:96,%1,04), 5'i (n:96,%5,2'si) erkekti. 46 erkek hastanın 5'i (%10,9), 50 kadın hastanın 1'i (%2) pozitif olarak bulundu ve aralarında istatistiksel bir anlamlılık bulunmadı (p=0,101) (Tablo 4.12).

Tablo 4.12. *M. genitalium* pozitifliği saptanan hastaların yaş grupları, cinsiyet ve bazı cinsel yaşam özelliklerine göre dağılımı

Hastaların özellikleri	Pozitif		Negatif		P
	n	(%)	n	(%)	
Cinsiyet					
Kadın	1	2	49	98	0,101 F
Erkek	5	10,9	41	89,1	
Yaş Grupları(Yıl)					
15-24	3	13,1	20	87	0,488
25-29	0	0	20	100	
30-34	0	0	18	100	
35-39	1	6,7	14	93,3	
40-44	1	11,1	8	88,9	
45-49	1	12,5	7	87,5	
50-54	0	0	3	100	
Şüpheli İlişki					
Evet	3	9,1	30	90,9	0,411 F
Hayır	3	4,8	60	95,2	
Çoklu Cinsel Eş					
Evet	2	7,1	26	92,9	1 F
Hayır	4	5,9	64	94,1	
İnfertilite					
Var	4	14,8	23	85,2	0.051 F
Yok	2	2,9	67	97,1	

F: Fisher's Exact Testi ile hesaplanan p değerini göstermektedir.

M.genitalium pozitifliği olan hastalarda infertilitenin varlığı istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte, infertilite olanlar olmayanlara göre 5,8 kat daha fazla bulundu (TRR=5,8,%95 GA1-33.939) (p=0,051). Hastaların semptomları açısından değerlendirme yapıldığında *M. genitalium* ile semptomlar arasında herhangi bir istatistiksel anlamlılık bulunmadı (p>0,05).

4.7. *Trichomonas vaginalis* Bulguları

96 hastanın akıntı örneklerinden direkt mikroskopi, kültür ve multipleks PCR çalışıldı. Ek test olarak bu yöntemlerin herhangi birinde pozitif çıkan hastaların idrar örneklerinde de multipleks PCR çalışıldı.

Bir hasta direkt mikroskopi yöntemi (%1,04), 2 hasta kültür yöntemi (%2,1), 4 hasta (%4,2) hem multipleks PCR (akıntı) hem de multipleks PCR (idrar) yöntemi ile olmak üzere toplam 4 hasta bir veya birden fazla *T. vaginalis* tanı testi ile pozitif bulundu. 92 hasta (%95,8) direkt mikroskopi, kültür ve multipleks PCR(akıntı) ve multipleks PCR(idrar) yöntemlerinin tümü ile negatif olarak bulundu.

Her iki PCR yöntemi ile pozitif bulunan 4 hastanın 2'sinde kültür yöntemiyle *T. vaginalis* saptanırken 2 hastada kültür negatif olarak bulundu. Kültür pozitif olup her iki PCR'da da negatif bulunan sonuç olmadı. Sadece bir multipleks PCR yöntemi ile pozitif olan olguya da rastlanmadı. Kültür yöntemi ile pozitif bulunan 2 hastanın, 1'inde direkt mikroskopi ile *T. vaginalis* pozitifliği saptandı. Direkt mikroskopi ile *T. vaginalis* tespit edilemeyen diğer 3 hastanın 3'ü de PCR yöntemleriyle pozitif olarak bulundu (Tablo 4.13). Sonuçların değerlendirilmesinde **en az iki test ile pozitiflik saptanması pozitiflik kriteri olarak kabul edildi.**

Tablo 4.13. *T. vaginalis* pozitifliği saptanan olguların çalışılan tüm yöntemler ile ayrıntılı değerlendirilmesi ve karşılaştırılması

Pozitif hasta	D. MİKROSKOPİ (n:96)	KÜLTÜR (n:96)	MULTİPLEKS PCR-SÜRÜNTÜ (n:96)	MULTİPLEKS PCR-İDRAR (n:22)
1	+	+	+	+
2	-	+	+	+
3	-	-	+	+
4	-	-	+	+

Kullanılan bu dört yöntemden 2 veya daha fazlası ile 4 hastada (%4,2) pozitiflik saptandı. Kültür altın standart olarak kabul edildiğinde DM'nin duyarlılığı %50, özgüllüğü %100, PPD'i %100, NPD'i %98,9 olarak bulundu. Multipleks PCR'ın duyarlılığı %100, özgüllüğü %97,9, PPD'si % 50, NPD'i %100 olarak bulundu.

Multipleks PCR altın standart olarak kabul edildiğinde ise kültürün duyarlılığı %50, özgüllüğü %100, PPD'si %100, NPD'i %97,9 olarak DM'nin duyarlılığı %25, özgüllüğü %100, PPD'si %100, NPD'si %96,8 olarak hesaplandı (Tablo 4.14 ve 4.15).

Tablo 4.14. Multipleks PCR ve Kültür sonuçlarının karşılaştırılması

TEST	MULTİPLEKS PCR (+)	MULTİPLEKS PCR(-)	TOPLAM
KÜLTÜR(+) hasta	2	0	2
KÜLTÜR (-) hasta	2	92	94
TOPLAM	4	92	96

$$X^2= 46,979$$

$$\text{Fisher exact test } p=0,001$$

Tablo 4.15. Multipleks PCR ve Mikroskopi sonuçlarının karşılaştırılması

TEST	MULTİPLEKS PCR (+)	MULTİPLEKS PCR(-)	TOPLAM
MİKROSKOPİ(+)	1	0	1
MİKROSKOPİ(-)	3	92	95
TOPLAM	4	92	96

$$X^2=23,242$$

$$\text{Fisher exact test } p=0,042$$

Yöntemlerin birbirleri arasında uyumluluğa bakıldığında, kültür ve mikroskopi yöntemlerinin uyumu iyi ($\kappa=0,662$), kültür ve multipleks PCR (akıntı) yöntemlerinin uyumu iyi ($\kappa=0,657$) olarak bulunurken, DM ve multipleks PCR yöntemlerinin uyumu orta ($\kappa=0,390$) olarak bulundu. Ayrıca, idrar ve akıntı örneklerinde çalışılan multipleks PCR ile pozitif bulunan hastalar %100 (4/4) uyumlu bulundu.

T. vaginalis pozitif bulunan hastaların özelliklerinin ve bazı risk faktörlerinin değerlendirilmesi: *T.vaginalis* pozitifliği saptanan hastaların bazı demografik özelliklerine bakıldığında, 4 hastanın 2'si erkek (erkek hastaların %4,4'ü), 2'si kadındı. (kadın hastaların %4'ü) Semptomlar ve hastaların özellikleri değerlendirildiğinde istatistiksel olarak bir anlamlılık bulunmadı ($p>0,05$). Pozitif bulunan 4 hastanın 2'sinde infertilite, şüpheli cinsel ilişki ve birden fazla cinsel eşe sahip olma özelliği bulunurken, diğer iki hastada bu özellikler yoktu.

4.8. Akıntı örneğinden *N. gonorrhoeae*, *C. trachomatis*, *M. genitalium*, *T. vaginalis* pozitif bulunan hastaların idrar örneklerinden çalışılan multipleks PCR sonuçlarının karşılaştırılması

N. gonorrhoeae, *C. trachomatis*, *M. genitalium*, *T. vaginalis* olmak üzere dört etken için akıntı örneklerinde pozitiflik bulunan 22 hastanın idrar örneklerinden de multipleks PCR çalışıldı. 22 hastadan 10'unda tek etken, 6'sında çoklu etken pozitifliği (5'inde 2'li, birinde üçlü) olmak üzere toplam 16 (%72,7) sında her iki multipleks PCR yöntemi ile elde edilen sonuçlar birbiri ile tam uyumluydu.

Tam uyum gözlenmeyen 6 hastanın 5'inde çoklu etken pozitifliği saptanmışken, 1 hasta (n:22, %4,5) tamamen uyumsuz olarak (idrar multipleks PCR ile tüm etkenler negatif, akıntı örneğinde 3 etken yönünden pozitiflik mevcuttu) bulundu. Bu uyumsuz olan ve çoklu etken pozitifliği bulunan hastalara baktığımızda (n:5); hastalardan 4'ünde (%18,2) iki etken pozitifliği mevcuttu ve bu etkenlerden biri uyumluyken, biri uyumsuz olarak bulundu. 1 hastada ise üç etken pozitifliği mevcuttu ve bu etkenlerden ikisi uyumluyken, biri uyumsuz olarak bulundu. Tablo 4.16' da 22 hastanın etken bazında, akıntı ve idrar örneklerindeki multipleks PCR sonuç karşılaştırmaları gösterildi.

Çoklu etken pozitifliği olup multipleks PCR sonuçları uyumsuz olarak saptanan 5 örnek içinde 3 örnek ile en çok *U. urealyticum* sonuçları uyumsuzluk göstermekteydi. Uyumsuz sonuç elde edilen diğer 2 hastanın birinde sürüntü örneğinde *C. trachomatis* negatif olarak bulunurken, idrar örneğinde pozitif olarak bulundu. Diğer uyumsuz sonuç elde edilen hastada ise *M.hominis* sürüntü örneğinde negatif bulunurken idrar örneğinde pozitif.

Tablo 4.16. Sürüntü ve İdrar Örneklerinin multipleks PCR sonuçlarının karşılaştırılması
(n:22)

n:22	Örnek	MULTİPLEKS PCR					
		NG	CH	MH	MG	TV	UU
1	SÜRÜNTÜ İDRAR	NEG NEG	NEG NEG	POZ POZ	NEG NEG	POZ POZ	NEG NEG
2	SÜRÜNTÜ İDRAR	POZ POZ	NEG NEG	NEG NEG	NEG NEG	NEG NEG	NEG NEG
3	SÜRÜNTÜ İDRAR	POZ POZ	NEG NEG	NEG NEG	NEG NEG	NEG NEG	POZ NEG
4	SÜRÜNTÜ İDRAR	NEG NEG	NEG NEG	POZ NEG	POZ NEG	NEG NEG	POZ NEG
5	SÜRÜNTÜ İDRAR	NEG NEG	POZ POZ	NEG NEG	NEG NEG	NEG NEG	POZ POZ
6	SÜRÜNTÜ İDRAR	NEG NEG	NEG NEG	POZ POZ	NEG NEG	POZ POZ	NEG POZ
7	SÜRÜNTÜ İDRAR	POZ POZ	NEG NEG	NEG NEG	NEG NEG	NEG NEG	NEG NEG
8	SÜRÜNTÜ İDRAR	NEG NEG	NEG NEG	NEG NEG	POZ POZ	NEG NEG	NEG NEG
9	SÜRÜNTÜ İDRAR	POZ POZ	NEG POZ	NEG NEG	NEG NEG	NEG NEG	NEG NEG
10	SÜRÜNTÜ İDRAR	NEG NEG	NEG NEG	NEG POZ	NEG NEG	POZ POZ	NEG NEG
11	SÜRÜNTÜ İDRAR	NEG NEG	NEG NEG	NEG NEG	POZ POZ	NEG NEG	NEG NEG
12	SÜRÜNTÜ İDRAR	NEG NEG	POZ POZ	NEG NEG	NEG NEG	NEG NEG	NEG NEG
13	SÜRÜNTÜ İDRAR	NEG NEG	POZ POZ	NEG NEG	NEG NEG	NEG NEG	NEG POZ
14	SÜRÜNTÜ İDRAR	NEG NEG	POZ POZ	NEG NEG	POZ POZ	NEG NEG	NEG NEG
15	SÜRÜNTÜ İDRAR	POZ POZ	POZ POZ	NEG NEG	NEG NEG	NEG NEG	NEG NEG
16	SÜRÜNTÜ İDRAR	NEG NEG	POZ POZ	NEG NEG	NEG NEG	NEG NEG	POZ POZ
17	SÜRÜNTÜ İDRAR	POZ POZ	NEG NEG	NEG NEG	NEG NEG	NEG NEG	NEG NEG
18	SÜRÜNTÜ İDRAR	NEG NEG	POZ POZ	NEG NEG	NEG NEG	NEG NEG	NEG NEG
19	SÜRÜNTÜ İDRAR	NEG NEG	NEG NEG	NEG NEG	NEG NEG	POZ POZ	NEG NEG
20	SÜRÜNTÜ İDRAR	POZ POZ	NEG NEG	NEG NEG	POZ POZ	NEG NEG	POZ POZ
21	SÜRÜNTÜ İDRAR	NEG NEG	NEG NEG	NEG NEG	POZ POZ	NEG NEG	NEG NEG
22	SÜRÜNTÜ İDRAR	NEG NEG	POZ POZ	NEG NEG	NEG NEG	NEG NEG	NEG NEG

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

CYBE'in toplumsal ve ekonomik yükünün de farkına varılmasıyla bu enfeksiyonların önlenmesi ve kontrolü konusundaki sorunlar giderek ve daha ciddi olarak halk sağlığı gündemine girmiştir. Son yıllarda HIV enfeksiyonu ve AIDS'in pandemi haline gelmesi, AIDS'in ölümcül bir hastalık olduğunun anlaşılması ve bazı CYBE'in HIV yayılımını kolaylaştıran faktörler arasında yer alması, artan ilginin en önemli nedenleri arasında sayılmaktadır (67).

Enfeksiyon belirti ve bulgusu olmasa da hızlı ve doğru tanı koymak, hem hastayı hem de cinsel eşini tedavi etmek, enfeksiyonların toplumda yayılmasını önlemek açısından çok önemlidir (53).

DSÖ'nün önerdiği sendromik tedavi yaklaşımı ile birinci basamak sağlık kuruluşlarında CYBE'a yönelik hizmet sunumunun kolaylaşacağı düşünülmüştür (67). Soruna dayalı yaklaşımın bazı avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. Bu yaklaşımın avantajları arasında, yanlış tanı ve etkisiz tedavi olasılığının azaltılması ve hekim dışı sağlık personeli tarafından da öğrenilebilmesi, ilk başvuruda tedaviye başlanılabilmesi ve tedavinin ucuz olması sayılmaktadır. Dezavantajlarına bakıldığında ise; asemptomatik vakalarda bu yaklaşım kullanılamamaktadır. Enfeksiyonun laboratuvar testleriyle saptanabildiği pek çok asemptomatik olgu bulunmaktadır, kontrolsüz ilaç kullanımı direnç gelişmesine yol açmaktadır (1, 53, 67). Ülkemizde DSÖ tarafından önerilen akış şemaları konusunda yapılan bir çalışmada, akış şemalarının vajinit tanısındaki duyarlılığı %66, özgüllüğü %45 bulunmuştur (67). DSÖ, hızlı testlerin (point of care) kullanımını asemptomatik hastada enfeksiyonu tanımlamak veya sendromik yaklaşımın duyarlılığını arttırmak amacıyla önermektedir. Testlerin hastalık kontrolünde önem taşıdıkları vurgulanmaktadır. Bu testler anında tedavi şansı da sağlamaktadırlar (1, 53).

Moleküler mikrobiyoloji alanında gelişen teknolojiyle birlikte bir örnekteki birden fazla etkene ait çok az miktarda DNA'yı bile saptayacak düzeye ulaşılmış olsa bile CYBE için henüz hızlı tanı, tedavi, korunma, tarama ve süveyans problemlerinin tam olarak aşılamaması önemli bir sorundur. Son yıllarda gelişen tanı teknikleri

toplumdaki riskli davranış gruplarını ortaya koyduğu gibi toplumlar arasındaki farkları da göstermektedir.

Bu çalışmada; CYBE etkenleri içinde dünyada da sık karşılaşılan ve önemli sayılan *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Mycoplasma genitalium*, *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis* ve *Trichomonas vaginalis*'in tanımlanmasında kullanılan, konvansiyonel yöntemler ve yeni bir yöntem olan DPO™ tabanlı Multipleks PCR yöntemi karşılaştırılmıştır.

Konvansiyonel olarak, endoservikal veya üretral örneklerin uygun besiyerlerine kültür ekimlerinin yapılması, mükemmel tanısal doğruluğu sağlarken, sıklıkla zor uygulanan, zaman alıcı, pahalı yöntemlerdir (53, 54). Yakın zamanda, CYBE'nin multipleks PCR ile pek çok etkenin hızlı ve aynı anda saptanması gündeme gelmiştir ve bu yöntem CYBE kliniklerinde sıklıkla kullanılmaktadır (54, 68). Bununla birlikte, CYBE etkenleri için multipleks PCR'nin güvenilirlik ve doğruluğu nadir olarak değerlendirilmiştir (54). Bu yüzden bizim çalışmamızda multipleks PCR yöntemi tercih edilmiş ve değerlendirilmiştir. Çalışmada kullanılan DPO™ - tabanlı multipleks PCR testi, *N. gonorrhoeae*, *C. trachomatis*, *M. hominis*, *U. urealyticum*, *M. genitalium*, *T. vaginalis* ve İnternal Kontrol (IC) hedef sekanslarının aynı anda amplifikasyonunu sağlayan ve hedef nükleik asitlerin PCR amplifikasyonunun, DPO™ primerleri kullanılarak yapıldığı, özgülüğü ve duyarlılığı yüksek bir testtir (54).

CYBE sıklıkla asemptomatik seyretmekle birlikte etken ne olursa olsun en sık rastlanan klinik bulgular genital akıntı, ülser ve siğildir (9, 15). Bizim çalışmamızda da, akıntı varlığı, tüm hastalar arasında %92,7 (n:89) ile başvuru şikayetlerinin başında gelmiştir. Bunu dizüri (%88,5), pollaküri (%70,8), kaşıntı (%51) ve cinsel ilişki sırasında ağrı (%46,9) izlemiştir. Semptomlar açısından bakıldığında; sadece noktüri ile gonore arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmuşken (p=0,012), *C. trachomatis*, *M. genitalium* ve *T. vaginalis* etkenleri için hastaların semptomları arasında herhangi bir istatistiksel anlamlılık bulunmamıştır (p>0,05). *M. hominis* pozitifliği ile akıntı varlığı (p=0,023), akıntıda balık kokusu (p=0,011), genital ülser (p=0,004) ve genital siğil (0,001) arasında istatistiksel anlamlılık bulunmuştur. Pollakürinin (p=0,029), ilişki sırasında ağrının (p=0,024), ilişki sırasında kanamanın

($p=0,03$) ve alt abdominal ağrının ($p=0,015$) ise *U. urealyticum* enfeksiyonunun oluşumunu etkilediği belirlenmiştir.

Çalışmamıza katılan 96 hastanın 38'inde (%39,6) çalışılan tüm yöntemler ile her hangi bir etken saptanmamıştır. Pozitiflik saptanan 58 hastanın 10'unda sadece *Candida* spp. üremesi görülmüşken, 48 hasta (%50) çalışma kapsamındaki etkenlerin herhangi birisiyle ve en az tek bir etken ile pozitif olarak bulunmuştur. Pozitiflik saptanan bu 48 hastanın 32'sinde (%66,7) tek etken pozitifliği mevcutken, 16'sında (%33,3) çoklu etken pozitifliği saptanmıştır.

Vajinit etkenleri arasında *Candida*'lar *Gardnerella vaginalis*'den sonra ikinci sırada gelmektedir ve onları *T. vaginalis* izlemektedir (69, 70). Bununla birlikte; ülkemizde yapılan bazı çalışmalarda vajinal akıntı şikayeti olan kadınlarda *Candida* türleri (en sık *C. albicans* olmak üzere) yüksek oranlarda tespit edilmiş ve bunu *G. vaginalis* ve *T. vaginalis* izlemiştir (71, 72, 73). Bizim çalışmamızda ise tez dahilindeki etkenler dışında; 50 kadın hastanın 10'unda (%20) sadece *Candida* spp. üremesi görülmüş ve literatürdeki bazı çalışmalarla benzerlik göstermiştir. Son yıllarda ise *C. albicans* dışındaki mayalar daha fazla sıklıkla vajinit etkeni olarak gözlenmekte, izolasyon oranlarında önemli artışlar olduğu bildirilmektedir. Giderek daha sık kullanılan antifungal ajanlara karşı da direnç gelişmekte olduğu bildirilmiştir (74, 75, 76). Bizim çalışmamızda izole edilen mayaların 7'si (%14) non-*albicans candida* spp., 3'ü (%6) *C. albicans* olarak bulunmuştur. *G. vaginalis* üremesi ise 50 kadın hastanın 2'sinde (%4) gözlenmiştir farklı olarak diğer etkenlerle birlikteliği saptanmıştır.

Çalışmamız kapsamındaki etkenlerin görülme sıklığına baktığımızda ise; *N. gonorrhoeae* %7,3 (7/96), *C.trachomatis* %8,3 (8/96), *T. vaginalis* %4,2 (4/96), *M. genitalium* %6,3 (6/96), *M. hominis* %11,5 (11/96), *U. urealyticum* %33,3 (32/96) oranlarında kullanılan bir veya iki yöntem ile pozitif olarak bulunmuştur. En sık görülen etken *U. urealyticum* iken ikinci sırayı *M. hominis* takip etmiştir. Benzer olarak, Lee ve arkadaşları da yaptıkları çalışmada toplam 739 örnekte en sık görülen etken olarak *U. urealyticum*'u (% 21,2) ikinci sırada *M. hominis* 'i (% 11,1) saptamışlardır (54).

Çalışmamızda tez kapsamındaki etkenler için pozitiflik saptanan 48 hastanın 32'sinde (%66,7) tek etken pozitifliği mevcutken, 16'sında (%33,3) çoklu etken

pozitifliği saptanmıştır. Hasta bazında en fazla çoklu olarak görülen etken, 16 hastanın 13'ünde de görülen *U. urealyticum* olarak saptanmıştır. Pozitiflik bulunan her etkeni kendi içinde karşılaştırdığımızda ise; *N. gonorrhoeae* 7 hastanın 4'ünde tek etken olarak saptanırken, 3'ünde (%42,9) diğer etkenlerle birlikteliği bulunmuştur. Aynı şekilde, *C. trachomatis* %50, *T. vaginalis* %75, *M. genitalium* %50, *M. hominis* %90,9, *U. urealyticum* %40,6 oranlarında çoklu etken olarak saptanmıştır. Buna göre; etken baz alındığında *M. hominis* en fazla saptanan çoklu etkenken, onu *T. vaginalis* izlemiştir. Lee ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, *C. trachomatis* için %45, *N. gonorrhoeae* için %6,3, *M. genitalium* için %100, *U. urealyticum* için %30,6, *M. hominis* için %51,2 ve *T. vaginalis* için %14,3 oranlarında çoklu etken pozitifliği rapor etmişlerdir (54). Japonya'da yapılan bir çalışmada, in house PCR ile *C. trachomatis* sıklığı %39, *N. gonorrhoeae* %27, *M. genitalium* %6,2, *M. hominis* %13, *T. vaginalis* %1,5 olarak saptanmış, 34 örnekte çoklu etken pozitifliği bulunmuştur (77). Bu sonuçlara göre, son yıllarda gelişen tanı tekniklerinin toplumdaki riskli davranış gruplarını ortaya koyduğu gibi toplumlar arasındaki farkları da gösterdiği düşünülmektedir.

Kim ve arkadaşları ise, 2011 yılında Kore'de yaptıkları bir çalışmada, bizim de kullandığımız Seeplex® STD6 Detection Multiplex PCR kitini kullanarak **asemptomatik** kişilerde üretrit ve servisitinin prevalansını ve klinik önemini araştırmışlardır. Hastanelerine check-up için gelen 709 kişiden ilk akım idrarı veya endoservikal örnek toplayarak multipleks PCR ile 6 CYBE etkenini taramışlardır. 709 kişinin 229'unda (%32,3) tek bir etken, 48'inde (%6,8) 2 farklı etken, 6'sında 3 farklı etken, 1'inde 4 farklı etken pozitifliği bulmuşlardır. Etken prevalansına bakıldığında, bizim çalışmamıza benzer şekilde ilk sırada %22,1 oranında *U. urealyticum*, ikinci sırada %11,6 oranında *M. hominis* etkenlerini pozitif bulmuşlardır. Bu etkenleri %5,6 ile *C. trachomatis*, %1,1 ile *T. vaginalis*, %0,4 ile *N. gonorrhoeae*, %0,3 ile *M. genitalium* takip etmiş, CYBE etkenlerinin asemptomatik kişilerde taraması için multipleks PCR'ı önermişlerdir (78). Dikkat çekici olarak *C. trachomatis* çoklu etken olarak *M. hominis*, *U. urealyticum*, *M. genitalium* ve *N. gonorrhoeae* ile birliktelik göstererek en fazla çoklu etken pozitifliği saptanan patojen olarak gözlenmişken, *N. gonorrhoeae* için sadece 2 hastada *C. trachomatis* ile birliktelik bulunmuştur. *T. vaginalis*'in ise sadece *M. hominis* ile birliktelik gösterdiği bildirilmiştir (78). Literatürde *N. gonorrhoeae* ve *C. trachomatis* birliktelikleri %45 oranında belirtilmektedir (6,31). Buna rağmen bizim

çalışmamızda sadece 1 erkek hastada bu iki etkenin birlikteliğine rastlanmıştır. Farklı olarak, çalışmamızda *T. vaginalis* 1 hastada tek etken olarak gözlenmişken, 3 hastada *M. hominis* ile 2 hastada ise *U. urealyticum* ile birlikteliği gözlenmiştir. Kim ve arkadaşları ayrıca **asemptomatik** 709 hastanın 50'sinde (%7,1) CYBE etkenine rastladıklarını ve bu oranın ihmal edilemez bir oran olduğunu bildirmişlerdir. Özellikle yüksek risk gruplarında, CYBE etkenlerinin taranmasının genel check-up'ın bir parçası olarak bakılması gerekliliğine de dikkat çekmişler ve asemptomatik kişilerin taranmasında da multipleks PCR'ı önermişlerdir. (78).

Lee ve arkadaşları, 2011 yılında 6 CYBE etkenini Seeplex[®] STD6 ACE Detection kitini kullanarak DPO[™] - tabanlı Multipleks PCR yöntemini monopleks PCR (Seegene) ile karşılaştırarak değerlendirmişlerdir. Tüm etkenler için, topladıkları 739 endoservikal ve idrar örneğinde testler arasında duyarlılık ve özgüllük açısından uyumu %100 olarak bulmuşlardır. *N. gonorrhoeae* ve *C. trachomatis* etkenleri için multipleks PCR ile pozitif bulunan 40 örneği referans yöntem olarak BD ProbeTec[™] duplex ile karşılaştırmışlar, gonore için %100 uyum oranı elde ederken, *C. trachomatis* için %99,7 uyum oranı bulmuşlardır. DPO[™] - tabanlı Multipleks PCR yönteminin yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada bizim çalışmamızla benzer olarak, 739 örnekte en sık görülen etken *U. urealyticum*'u ikinci sırada *M. hominis*'i saptamışlardır (54).

Samra ve arkadaşları, 2011 yılında yaptıkları bir çalışmada, 113 hastada 6 CYBE etkenini Seeplex[®] STD6 ACE Detection kitini kullanarak DPO[™] - tabanlı Multipleks PCR yöntemini, kültür ve PCR testlerini de içeren konvansiyonel referans yöntemlerle karşılaştırmışlardır. Multipleks PCR yönteminin duyarlılığını *N. gonorrhoeae*, *C. trachomatis*, *M. hominis*, *M. genitalium* ve *T. vaginalis* için %100 bulurken, *U. urealyticum* için duyarlılığı bizim çalışmamıza paralel olarak daha az duyarlı (%98) bulmuşlardır. Multipleks PCR testinin özgüllüğünün ise %97 ile %100 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Aynı zamanda yine bizim çalışmamızla paralel olarak, 51 örnekte tek etken pozitifliği, 24 örnekte 2 veya daha fazla etken pozitifliği belirlemişlerdir. Çalışmamızla benzer olarak en sık *Ureaplasma* (%42,5) tespit etmişlerdir. Kadınlarda daha sık olmak üzere (%21,9) *M. hominis* bulmuşlardır. *N. gonorrhoeae*'de erkeklerde daha sık olarak (%19,4), kadınlarda ise daha az (%2,4)

olarak bildirmişlerdir (68). Bizim çalışmamızda da gonore sadece erkeklerde gözlenirken kadınlarda hiç gözlenmemiştir. Bu farklılığın seçtiğimiz çalışma grubunun küçüklüğüne ve kadınlardaki sosyal davranış profilinde çeşitliliğinin az olmasına bağlayabiliriz (%47,9 ev hanımı).

Referans testin seçimi herhangi yeni bir testi değerlendirirken çok önemlidir. Kültür çoğu CYBE etkeni için altın standart olmasına rağmen, önceki bazı çalışmalar NAAT'nin *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, mycoplasmalar gibi bazı CYBE etkenlerinin klinik örneklerde saptanmasında kültür ile karşılaştırıldığında daha yüksek tanımlama oranları bulmuşlardır (79, 80, 81, 82, 83, 84). Bizim çalışmamızda da benzer olarak *M. hominis*, *U. urealyticum* ve *T. vaginalis* etkenleri için konvansiyonel yöntemlere göre DPO™ tabanlı Multipleks PCR ile daha fazla etken pozitifliği saptanmıştır. *M. hominis* için 2, *U. urealyticum* için 14, *T. vaginalis* için 2 örnek multipleks PCR ile pozitif bulunurken, diğer konvansiyonel yöntemlerle negatif olarak bulunmuştur. Gonore ve *C. trachomatis* için ise diğer konvansiyonel yöntemlerle tam bir uyum gözlenmiştir.

Çalışmamıza katılan hastalarda; %7,3 (7 olguda) *N. gonorrhoeae* pozitifliği kültür, direkt mikroskopi, multipleks PCR (sürüntü) ve idrar örneğinde çalışılan multipleks PCR yöntemlerinin hepsi ile saptanmıştır. Kültür altın standart kabul edildiğinde, direkt mikroskopi ve multipleks PCR (akıntı örneği) yöntemlerinin özgüllüğü ve duyarlılığı %100 olarak bulunmuştur. Yöntemlerin p değerleri karşılaştırıldığında hepsi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş (p=0,000) ve testler arasında tam bir uyum gözlenmiştir (Kappa=1). Çalışmamız multipleks PCR ile yapılan bazı çalışmalarla testin güvenilirliği ile ilgili benzerlik göstermektedir (54, 68).

Horii ve arkadaşları, Japonya'da 2009 yılında bizim çalışmamızda kullandığımız DPO™ tabanlı Multipleks PCR yöntemini 130 klinik örnekte ilk defa CYBE etkenleri için çalışmışlar ve in-house PCR ve COBAS Amplicor PCR ile karşılaştırmışlardır. Semptomatik hastalardan toplanan 66 idrar, 4 üretral akıntı, 59 servikal akıntı ve 1 boğaz kültür (kadından alınan) örneği çalışılmış ve DPO tabanlı Multipleks PCR'ın in house PCR'a göre duyarlılığını %96, özgüllüğünü %100 bulunmuştur. Aynı zamanda, nonpatojenik *Neisseria* türleri ile yalancı pozitifliğe sebep olabilen COBAS Amplicor PCR testine göre bu yeni teknolojinin *Neisseria* türleri ile çapraz reaksiyon vermediğini

raporlamışlardır (77). Bizim çalışmamızda da *N. gonorrhoeae* kültürü ile DPO tabanlı Multipleks PCR arasında tam bir uyum bulunmuştur. Aynı çalışmada, multipleks PCR'ın 2 örnekte gonore için yanlış negatif sonuç verdiği rapor edilmiştir (77). Bizim çalışmamızda kültür altın standart kabul edildiğinde gonore için yanlış negatif sonuç saptanmamıştır.

Gonore ve diğer bazı CYBE tanısı için hızlı testler de kullanılmaktadır. Peeling ve arkadaşları, bu testlerin asemptomatik hastada enfeksiyonu tanımladıklarını, vajinal akıntısı olan kadında sendromik yaklaşımın özgüllüğünü arttırdıklarını, bu testlerin optimal özgüllük ve duyarlılığa sahip olmasa bile hastalık kontrolünde önem taşıdıklarını ve anında tedavi şansı sağladıklarını bildirmişlerdir (85).

Endoservikal örneklerin gram boyasında gram negatif intraselüler diplokok (GNID) varlığının gonokok servikal enfeksiyonu için spesifik olmasına rağmen, duyarlı bir indikatör olmadığı, çünkü GNID'ın gonokok enfeksiyonlu kadınların sadece %50'sinde gözlemlendiği belirtilmektedir (31). Çalışmamızda hiçbir kadın hastada GNID görülmezken, multipleks PCR pozitifliğine de rastlanmamıştır. Ülkemizde yapılan bir diğer çalışmada, üretral akıntı şikayetiyle gelen 100 hastada *N. gonorrhoeae* gram boyama ile değerlendirilmiş ve 23 hastada pozitiflik saptanarak oldukça yüksek bir oran raporlanmıştır (86).

Çalışmamızda; C. trachomatis tanısı için DFA ve multipleks PCR (akıntı) yöntemleri uygulanmıştır. Ayrıca, bu yöntemlerde pozitif bulunan hastaların idrar örnekleri multipleks PCR ile tekrar çalışılmış, 96 hastanın 8'inde (%8,33) çalışılan her üç test ile *C. trachomatis* pozitifliği saptanırken, 88 hasta tüm (%90,6) testler ile negatif olarak bulunmuştur. Farklı olarak bir hasta gonore pozitifliği için idrar örneğinde multipleks PCR çalışırken tesadüfen sadece idrar multipleks PCR testi ile pozitif olarak bulunmuştur. Buna göre yöntemler karşılaştırıldığında, özgüllük ve duyarlılık değerleri %100 olarak saptanmıştır. DFA yöntemi ile multipleks PCR (akıntı) yöntemi arasında %100 bir uyum bulunurken, yöntemlerin p değerlerine bakıldığında istatistiksel anlamlılık mevcuttur ($p=0,00$) ve her iki yöntem arasında tam bir uyum saptanmıştır (Kappa=1). DSÖ'nün 2013 yılında yayınlanan CYBE etkenlerinin laboratuvar tanısı rehberinde, *C.trachomatis* tanısında NAAT'nin en iyi duyarlılık ve mükemmel özgüllüğe sahip olduğu bildirilmekte ve bu testler önerilmektedir. Aynı zamanda, kadın

ve erkekler için non-invaziv olarak toplanan idrar örneklerinde de NAAT testlerinin yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip olduğu vurgulanmaktadır (53).

Günümüzde, PCR yöntemi *C. trachomatis* tanısında birçok çalışmada artık referans yöntem olarak kabul edilmektedir. Bu durum hücre kültürünün yerini zamanla altın standart olarak PCR'a devredeceğini düşündürmektedir. DSÖ'nün 2013 yılında yayınlanan CYBE laboratuvar tanısı rehberine göre *C. trachomatis* tanısında NAAT ve hücre kültürü referans test olarak kabul edilmiştir (53, 87, 88, 89, 90).

Ülkemizde *C. trachomatis* tespiti için yapılan bir çalışmada, 186 kadın hastadan toplanan endoservikal örnekler PCR ve EIA yöntemleri ile çalışılmıştır. 33 örneğin (%17,7) kullanılan metodlardan en az biri ile pozitif olarak bulunduğu bildirilmiş ve bu referans alındığında PCR'ın duyarlılığının (%96,9), EIA'dan (%84,6) daha fazla olduğu raporlanmıştır (91). Çalışmamızda ise *C. trachomatis* sıklığı daha az olarak (% 8,33) bulunmuş ve multipleks PCR'ın DFA'ya göre duyarlılığı ve özgüllüğü %100 olarak saptanmıştır. Diğer çalışmalardan farklı olarak çalışmamızda pozitif bulunan hastalardan sadece biri kadın hastadır. Bu farklılığı hastanemize başvuran erkek hastaların kadınlara göre daha fazla risk faktörü taşıyor olmasına bağlayabiliriz.

Shokohizadeh ve ark.'nın ülkemizde yaptıkları bir çalışmada ise 68 hayat kadınında klamidy enfeksiyonları ELISA ve PCR yöntemleriyle karşılaştırılmıştır. PCR ile 17 (%25) kadında, ELISA yöntemi ile 10 (%14,7) kadında pozitif sonuç elde etmişler ve kriptik plazmidi hedef alan PCR yönteminin (%100), ELISA'dan (%58,8) daha duyarlı olduğunu bildirmişlerdir (92).

Baksu ve arkadaşları ise, 321 servisit tanısı alan hastada *C. trachomatis*'i optik immunoassay yöntemi kullanarak araştırmışlar ve %1,87 oranında pozitiflik rapor etmişlerdir (93). Ülkemizde yapılan bir diğer çalışmada, üretral akıntı şikayetiyle gelen 100 hastada klamidyal antijenler, VIDAS *Chlamydia* yöntemi (bioMeriux, Marcy l'Etoile, France) ile araştırılmış ve 21 hastada oldukça yüksek bir oranda pozitiflik saptanmıştır (86). Görüldüğü üzere, *C. trachomatis* tanısı için çalışılan olgu grubu veya kullanılan yöntemler çok farklı sonuçlara sebep olabilmektedir. Bu yüzden, çalışılacak popülasyona ve etkenin sıklığına göre yöntemlerin seçiminin önemli olduğunu düşünmekteyiz.

Çalışmamızda, kültür tabanlı yöntem ile 9 hastada (%9,4), multipleks PCR yöntemi ile 10 hastada (%10,4) *M. hominis* pozitifliği saptanmıştır. 3 hasta iki yöntemden birinde pozitif olarak gözlenmiştir. Toplam 11 hasta (%11,5) bir veya birden fazla tanı testi ile *M. hominis* pozitif bulunmuştur. *M. hominis* için **en az bir yöntemle pozitif bulunan (bir veya birden fazla test ile reaktif bulunan) 11 olguya ait örnek referans alındığında**, multipleks PCR'in duyarlılığı % 90,1 (10/11), özgüllüğü %100 (85/85) olarak bulunmuştur. Kültür tabanlı yöntemin duyarlılığı %81,8 (9/11), özgüllüğü %100 (85/85) olarak bulunmuştur. Bu sonuçlara göre; multipleks PCR'in duyarlılığı %88,9 ile %90,1 arasında, kültürün duyarlılığı ise %80 ile %81,8 arasında değişmektedir. Kültür tabanlı yöntem baz alındığında; multipleks PCR testi için duyarlılık % 88,9, özgüllük %97,7 olarak bulunurken, multipleks PCR yöntemi baz alındığında; kültür yöntemi için duyarlılık %80, özgüllük %98,8 olarak bulunmuştur. İki tanı testi arasında uyuma bakıldığında %96,9 oranında bir uyum görülmüştür.

Japonya'da 2009 yılında DPO tabanlı Multipleks PCR yöntemi kullanılarak 130 klinik örnekte çalışılmış ve in-house PCR ile karşılaştırıldığında sadece 1 örnekte *M. hominis* için yanlış negatif sonuç saptanmıştır (77). Bizim çalışmamızda *M. hominis* için kültür tabanlı yöntem baz alındığında ise 1 olası yanlış negatif sonuç saptanmıştır.

Ülkemizde, bizim kullandığımız MYCOFAST testini veya benzer diğer ticari testleri *M. hominis* ve *U. urealyticum* tanısında kullanan çalışmalar bildirilmiştir (93, 94, 95, 96, 97). Bu çalışmalar genellikle prevalansı ve duyarlılık profilini gösteren çalışmalardır. Karaarslan ve ark. 90 endoservikal örnekte izolasyon için A7 agar besiyerini kullanmışlar ve kültür tabanlı Mycofast kiti ile karşılaştırmışlardır. Mycofast ile %55,5 ve A7 agar ile %46,6 oranında pozitif sonuç alındığını, Mycofast ile bulunan 8 pozitif sonucun A7 agar ile gösterilemediğini, A7 agarda görülen tüm pozitif sonuçların Mycofast ile de saptandığını bildirmişlerdir. Mycofast identifikasyon kitinin, A7 agara göre daha duyarlı olduğunu, fakat daha pahalı bir yöntem olduğunu belirtmişlerdir (96).

Baksu ve arkadaşları ise, 321 servisit tanısı alan hastada *U. urealyticum* ve *M. hominis* etkenlerini Mycofast kiti kullanarak araştırmışlar, en sık servisit etkeni olarak %79,44 oranında *U.urealyticum*'u, da sonra %18,69 oranı ile *U. urealyticum*+*M.hominis* birlikteliğini rapor etmişlerdir. Tek başına *M. hominis* etkenine

rastlamamışlardır (93). Bizim çalışmamızda da *M. hominis* tek etken olarak sadece bir kadın hastada gözlenmiştir. Görülme sıklığına bağlı çeşitli farklılıkların hasta popülasyonu ve çalışmanın yapıldığı yere bağlı olduğunu düşünmekteyiz.

Ülkemizde çalışmamızda kullandığımız kite benzer ticari kültür tabanlı bir test kullanılarak 2011 yılında yapılan bir diğer çalışmada, vajinitli kadınlarda *M. hominis* ve *U. urealyticum* sıklığı ve antimikrobiyal duyarlılığı araştırılmıştır. Çalışmada 340 hastanın 150'sinde *M. hominis* ve/veya *U. urealyticum* (%44,1) izole edilmiş bunlardan 136'sında *U.urealyticum* (%40), 5'inde (%1,5) *M. hominis*, 9'unda ise (%2,6) iki etken birden pozitif bulunmuştur. Her iki etkenin de en duyarlı olduğu antimikrobiyalin JM, PT olduğu ve bunları çok yakın bir oranla DO'nun takip ettiği belirtilmiştir.. *U. urealyticum* için CIP direnci en yüksek oranda (%44,8) bulunurken, *M. hominis* için makrolid grubu antibiyotikleri daha dirençli olarak bulunmuştur (97). Bizim de çalışmamızda benzer olarak JM ve DO tüm hastalarda duyarlı, PT ise sadece bir hastada orta duyarlı bulunmuştur. Tüm hastalarda, CIP (%56,5), OFX (%34,8) ve ROX (%21,7) direnci dikkat çekmiştir. Sonuçlarımızda bu çalışmadaki gibi belirgin bir CIP direnci söz konusudur.

Çalışmamızda *U.urealyticum* pozitifliği kültür tabanlı yöntem ile 18 hastada (%18,75), multipleks PCR yöntemi ile 28 hastada (%29,2) saptanmıştır. 18 hasta ise iki yöntemden birinde pozitif olarak gözlenmiştir (olası pozitif). Toplam 32 hasta (%33,3) bir veya birden fazla tanı testi ile pozitif olarak bulunmuştur. 64 hastada (%64,7) her iki yöntem ile de negatif sonuç elde edilmiştir. Kültür tabanlı yöntem baz alındığında; multipleks PCR testi için duyarlılık % 77,8 özgüllük %82,1 olarak bulunurken, iki tanı testi arasında uyum %81,3 oranında saptanmıştır. Testler arasında istatistiksel uyuma bakıldığında iki testin uyumunun "makul" olduğu gözlenmiştir (Kappa=0,493, p=0,000). Biernat-Sudolska ve arkadaşları, 500 yenidoğan endotrakeal aspiratında *ureaplasma* türlerini, kültür, PCR ve çalışmamızda kullandığımız kültür tabanlı yöntemle benzer bir yöntem ile karşılaştırmışlardır. Çalışmada 79 örneğin 68'inde kültür ile, 77'sinde kültür tabanlı ticari yöntem (sıvı besiyeri) ile, 75'inde ise PCR ile pozitiflik saptamışlar, 40 örnekte bakteriyel flora kontaminasyonundan dolayı kültür yöntemini uygulayamadıklarını belirtmişlerdir. Böyle vakalarda PCR'ın belirleyici olduğunu, aynı zamanda kültürün canlı etkene ihtiyacı, örnekte canlı etkenin bulunmaması gibi

sebeplerden kültürün yanlış negatif sonuçlara sebep olabileceğini bildirmişlerdir. Bununla birlikte; bizim çalışmamızla benzer olarak kültür tabanlı hızlı yöntem ile 4 örnekte pozitiflik saptamışlar ancak PCR yöntemiyle negatif olarak bulmuşlardır. PCR'ın duyarlılık ve özgüllüğünü hızlı kültür tabanlı teste göre sırasıyla % 96 ve %98 olarak rapor etmişlerdir (98). Bu şekilde kültür tabanlı hızlı testlerin bazen yanlış pozitif sonuçlara sebep olduğu çalışmalar da bildirilmiştir (98, 99). Aynı zamanda bu hızlı testlerde sonuç değerlendirmesi, üreaz pozitifliğine göre sıvı besiyerlerindeki renk değişikliğine bakılarak yapıldığı için diğer üreaz pozitif bakterilerin de (örneğin; *Proteus*, *Klebsiella*) yanlış pozitifliklere sebep olabileceğine dikkat çekilmektedir (98).

Son yıllarda, *ureaplasma* türlerinin tespiti için multipleks real-time PCR yöntemi de kullanılmaktadır. Xiao ve arkadaşları, 2010 yılında *ureaplasma* türlerinin tespiti için multipleks real-time PCR'ı kültür ve konvansiyonel PCR ile karşılaştırmışlardır. 132 örnekte, 32'sini kültür ile, 52'sini multipleks real-time PCR ile pozitif bularak, PCR'ın 20 örnekte (%15,2) tek başına pozitiflik bulunduğunu belirtmişlerdir. Kültürü referans aldıklarında real-time PCR'ın duyarlılığını %96,9, özgüllüğünü %79 olarak bulmuşlardır (100). Bizim çalışmamızda da benzer olarak, kültür tabanlı yöntem ile toplam 18, multipleks PCR ile toplam 28 pozitiflik saptanmış ve 10 örnek (%10,4) sadece multipleks PCR ile *ureaplasma* türleri için pozitif olarak bulunmuştur. Aynı çalışmada, ikinci grup olarak 194 kültür pozitif örneği multipleks real time PCR ve konvansiyonel PCR ile karşılaştırmışlar, konvansiyonel PCR ile 176 pozitif, 18 negatif sonuç, multipleks real-time PCR ile 188 pozitif, 6 negatif sonuç bulmuşlar ve böylece, multipleks PCR'ın hatalı negatif sonuçları geleneksel PCR'a göre %9,3'ten %3,1 oranına azalttığını bildirmişler. Karşılaştıkları kültür negatif PCR pozitif örneklerin yanlış negatif yerine gerçek pozitif olmasının daha muhtemel olduğunu belirtmişlerdir (100).

Ülkemizde yapılan bir çalışmada, üretral akıntı şikayetiyle gelen 100 hastada *U. urealyticum* ve *M. hominis* sıklığı çalışmamızda kullandığımız kültür tabanlı bir yöntem ile araştırılmış, sırasıyla 45 ve 7 hastada pozitiflik saptanmıştır. *U. urealyticum* ile *M. hominis* birlikteliği 6 hastada saptanmıştır (86). Bizim çalışmamızda da benzer olarak en sık *U. urealyticum* etkenine rastlanmış ve en sık 2'li etken olarak *U. urealyticum* ve *M. hominis* pozitifliğine (n:5) rastlanmıştır.

Çalışmamızda, *M. genitalium* tanısında tüm hastaların akıntı örneklerinde multipleks PCR yöntemi çalışılmıştır. Ek test olarak çalışılan bu hastalardan pozitif çıkanların **idrâr** örneklerinde, tekrar multipleks PCR yöntemi çalışılmıştır. Multipleks PCR (akıntı) yöntemi ile 96 hastanın 6'sında (%6,3) pozitiflik bulunurken, multipleks PCR (idrâr) ile 5 hasta pozitif olarak saptanmıştır. Sonuçlara baktığımızda, 5 hastanın hem akıntı hem idrâr örnekleri multipleks PCR yöntemi ile pozitif saptanmış, 1 hasta multipleks PCR (akıntı) ile pozitif bulunurken multipleks PCR (idrâr) yöntemi ile negatif olarak bulunmuştur. Bunun nedeninin idrârda çalışılan multipleks PCR yönteminde görülen yanlış negatiflikten dolayı olduğunu düşünmekteyiz. İdrâr ekstraksiyonu sırasında veya PCR sırasında oluşan bir hata bu sonuca sebep olmuş olabilir. İdrârda multipleks PCR sadece 22 hastada çalışıldığı için özgüllük ve duyarlılık hesaplamaları *M. genitalium* için yapılamamıştır.

Stellrecht ve arkadaşları Amerika'da yaptıkları bir çalışmada, kendilerinin geliştirdiği bir multipleks PCR yöntemi ile kültür yöntemini genital mikoplazmalar açısından karşılaştırmışlardır. Toplam 84 örneğin 21'ini kültür pozitifliği, pozitif olan 21 örneğin 17'sinde PCR pozitifliği saptarken PCR pozitif bulunan 11 örneği ise kültür negatif olarak saptamışlardır. Konfirmasyon testi olarak ikinci bir bölgeyi hedef alan PCR metodunu kullanmışlardır. Geliştirdikleri multipleks PCR yönteminin 84 örnekte saptanan 30 gerçek pozitif örneğin 26'sını saptadığını bildirmişler ve duyarlılık, özgüllük, PPD ve NPD'sini sırayla %87, %96, %94 ve %93 olarak rapor etmişlerdir. Aynı zamanda bizim çalışmamızla da paralel olarak bu metodun genital mikoplazmaların tanısı için hızlı, duyarlı ve kolay olduğunu belirtmişlerdir. Multipleks PCR ile ureaplasma tespitinde, çalışmamızda bulduğumuz gibi, bir artış tespit etmişlerdir (84). Bizim çalışmamızda, *M. hominis* ve *U. urealyticum* için kültür tabanlı yöntemle pozitif bulunup multipleks PCR ile negatif sonuç alınan hasta sayısı sırasıyla 1 ve 4 iken, multipleks PCR ile pozitif bulunup kültür tabanlı yöntem ile negatif bulunan örnek sayısı 2 ve 14 olarak bulunmuştur.

Genital mikoplazmalara yaygın olarak kültür ile tanı konulmaktadır. Fakat kültür, pahalı ve uzmanlık gerektiren bir yöntemdir. Kültür *M. hominis* ve *U. urealyticum* için 2-5 gün arası, *M. genitalium* için 8 haftaya kadar uzayan zaman gerektirmektedir. NAAT ise 8 saatten az bir sürede bu etkenleri tespit edebilmektedir.

(84). PCR ile yanlış negatif sonuçların örnekteki inhibitör maddelerden dolayı olabileceği öne sürülmektedir (84). Kültürde ise yanlış pozitifliklerin, artefaktların koloni olarak hatalı şekilde tanımlaması ile olabildiği bildirilmektedir (84). Yeni amplifikasyon testlerinin tanısal değeri ile ilgili olarak geçmişten günümüze çeşitli problemler bildirilmiştir. Genellikle bu testler altın standart yöntemlere göre daha yüksek tespit oranına sahip bulunmuş, uyumsuz sonuçları çözmek için kullanılan ilave testler ise önemli tartışmalara yol açmıştır (84, 87, 88, 101). Bizim çalışmamızda da karşılaştırma testleri olarak birden fazla test kullanılmaya çalışılmıştır, bununla birlikte çalışmamızın kısıtlayıcılığı olarak sadece pozitif bulunan 22 hastada ilave test olarak idrarda multipleks PCR çalışılabilmiştir.

Literatürde genital mikoplazmaların hızlı tanısının, aynı zamanda özellikle düşük doğum ağırlığına sahip infantlarda da menenjit, solunum hastalıkları ve ölüme sebep olabildiğinden dolayı önemli olduğu vurgulanmıştır (84).

Son zamanlarda, genital mycoplasma ve ureaplasmaların infertiliteye katkıda bulunabileceklerine dair çalışmalar bulunmaktadır. Gdoura ve arkadaşları, 120 infertil erkek hastadan topladıkları semen örneğinde en sık olarak *U. urealyticum* tespit etmişlerdir (102). Bizim çalışmamızda da, 27 infertil erkek hastanın 11'inde *U. urealyticum* pozitifliği saptanmıştır.

Horner ve arkadaşları *U. urealyticum* ve *M. genitalium* etkenlerini antibiyotik tedavisinden sonra da görülen semptomatik kronik non-gonokoksik üretrit önemli sebepleri arasında bulmuşlardır. 114 semptomatik, 64 asemptomatik erkek hasta çalışmaya dahil edilmiş, *M. genitalium* akut üretrit etkeni olarak saptanmıştır. Ayrıca, PCR yönteminin kullanıma girmesinden önce güvenilir *M. genitalium* tanısı koymanın olası olmadığını da bildirmişlerdir (57). Biz de çalışmamızda *M. genitalium* tanısı için sadece multipleks PCR yöntemini tercih ettik. Günümüzde, bu etken için NAAT'leri önerilmektedir (31, 53). Çünkü kültür ile tanımlama oldukça zor, yavaş (birkaç ay) ve duyarlı değildir. Şimdiye kadar, hiçbir serolojik testin, antijen tanımlama testinin ya da hızlı tanı testlerinin (POC) ürogenital *M. genitalium* tanısında yararlı olduğu kanıtlanmamıştır (53).

M. genitalium etkeni için epidemiyolojik çalışmalar çoğunlukla erkekler üzerine odaklanmıştır (103, 104, 105, 106, 107). Kadınlarda *M. genitalium* enfeksiyonlarının üreme sistemiyle ilgili bağlantılarını açıklayan az sayıda veri bulunmaktadır. *M. genitalium* etkeninin potansiyel rolü de dahil olmak üzere persistan servisit etiolojisinde yeni araştırmalara ihtiyaç olduğu literatürde vurgulanmıştır (103, 108). Bizim çalışmamızda da 6 *M. genitalium* pozitif hastadan biri kadın hasta olarak bulunmuştur.

Çalışmamızda; *T. vaginalis* tanısı için, 96 hastanın akıntı örneklerinden direkt mikroskopi, kültür ve multipleks PCR çalışılmıştır. Ek test olarak bu yöntemlerin herhangi birinde pozitif çıkan hastaların idrar örneklerinde de multipleks PCR çalışılmıştır. 1 hasta direkt mikroskopi yöntemi, 2 hasta kültür yöntemi, 4 hasta (%4,2) hem multipleks PCR (akıntı) yöntemi hem de multipleks PCR (idrar) yöntemi ile pozitif olarak bulunmuştur. Kültür altın standart olarak kabul edildiğinde DM'nin duyarlılığı %50, özgüllüğü %100, multipleks PCR'ın duyarlılığı %100, özgüllüğü %97,9 olarak bulunmuştur. Multipleks PCR altın standart olarak kabul edildiğinde ise kültürün duyarlılığı %50, özgüllüğü %100 olarak, DM'nin duyarlılığı %25, özgüllüğü %100 olarak hesaplanmıştır.

T. vaginalis tanısı için kültür yöntemi, direkt ıslak preparat mikroskopik incelemesinden daha güvenilir bir yöntem olmasına rağmen, hala ideal bir yöntem değildir. Özel besiyerleri ve 7 güne kadar uzayan mikroskopik inceleme gerektirmektedir (68). Tanı, genellikle vajinal sekresyonların mikroskopisi ile konmaktadır, fakat bu yöntemin duyarlılığı yaklaşık %60-70'dir ve optimum sonuçlar için ıslak preparatın 10 dakika gibi kısa bir sürede değerlendirilmesi gereklidir (31,53). Çalışmamızda DM ile multipleks PCR pozitif olan 4 hastanın sadece birinde (kadın hasta) *T. vaginalis* görülmüştür. 2 erkek hastanın 2'sinde de DM'de pozitiflik bulunmamıştır. Bunun nedenlerine baktığımızda; parazitin ısıya duyarlılığının yüksek olması ve hareketini 10 dakika gibi kısa bir sürede kaybetmesi, bazı beyaz kan hücrelerinin (lenfosit, küçük nötrofil, granülosit) boyutunun *T. vaginalis*'in boyutuna benzemesi nedeniyle karıştırılabilmesi ve son olarak hastaların çoğunda organizma yükünün mikroskopinin tanımlama sınırlarının altında olması sayılmaktadır.

DM, erkekte üretral örnek veya idrar sedimentinden bakılabilmektedir fakat bu yöntem muhtemelen düşük organizma yükünden kaynaklanan düşük duyarlılığa sahiptir (53, 109). Aynı zamanda, erkeklerde DM'nin duyarlı bir test olmadığı ve POC testlerin arasında bulunmadığı, kültürün ise üretral akıntı, idrar ve semen örnekleri için opsiyonel bir tanı yöntemi olduğu literatürde vurgulanmaktadır (31). Bununla birlikte, bizim çalışmamızla benzer olarak NAAT'inin [örneğin; PCR veya TMA],erkeklerde *T. vaginalis* tanısında yüksek duyarlılığa sahip olduğu, bazı çalışmalarda bildirilmiştir (110, 111, 112). Ayrıca DSÖ de POC testlerin *T. vaginalis* tanısında direkt mikroskopiden daha duyarlı olduğuna dikkat çekmektedir (53).

Sutton ve arkadaşları, 2001-2004 yılları arasında üreme çağındaki 3754 kadında *T.vaginalis* prevalansını araştırmışlardır. Kadınların kendilerinin topladığı (self-collected vaginal sürüntü) vajinal örneklerden PCR çalışarak, *T.vaginalis* prevalansını %3,1 olarak rapor etmişler, PCR'ın duyarlılığı bu etkenin tanısında yüksek olduğu için bu yöntemi seçtiklerini bildirmişlerdir (14). Bu oran bizim çalışmamızla (%4,2) paralellik göstermektedir. Fakat bizim seçtiğimiz popülasyonun küçüklüğü de göz ardı edilmemelidir.

Çalışmamızda saptadığımız kadın hastalardaki (2/50) *T.vaginalis* pozitiflik oranının (% 4), ülkemizin değişik illerinde vajinal akıntılı kadınlarda yapılan çalışmalar ile karşılaştırıldığında benzer olduğu gözlenmiştir. Ülkemizde 1994-2003 yılları arasında yapılan çalışmalarda seçilen popülasyona ve kullanılan yöntemlere (DM, kültür, boyama) göre değişiklik gösteren %3-72,3 oranları arasında değişen bir *T. vaginalis* pozitifliği bildirilmiştir (113). Yapılan bazı çalışmalar Tablo 5.1'de özetlenmiştir.

Tablo 5.1. Çeşitli çalışmalarda *T. vaginalis* tanı testlerinin karşılaştırılması

Araştırmacı Adı / Kaynak no	Yayın yılı	İl	Vaka/ n	Yöntem	T.vaginalis saptanma oranı %
Ayhan ve ark. (122)	1996	Ankara	Vaginal akıntı / 154	DM	3
Suay ve ark. (123)	1995	Diyarbakır	Hayat kadını / 300	DM	40,3
				Kültür	72,3
Aksoy ve ark. (124)	2002	İzmir	Vaginal akıntı /119	DM	4,2
				Kültür	4,2
Akarsu ve ark. (125)	2003	Ankara	Hayat kadını / 246	DM	4,9
				Kültür	4,9
Daldal ve ark. (126)	2002	Malatya	Konsomatris/33	DM	42,4
				Giemsa	42,4
				Kültür	42,4
Ertabaklar ve ark. (113)	2004	Aydın	Vaginal Akıntı / 220	DM	5,45
				Kültür	7,27

Ertabaklar ve ark. çalışmalarında rutin tanıda DM ile karşılaştırıldığında kültür yönteminin kullanılmasının gerekliliğini vurgulamışlardır (113). Bizim çalışmamızda da 4 örneğin sadece birinde DM ile *T. vaginalis* pozitifliği bulunmuştur. Bu sebeple şüpheli olgularda DM ve kültür negatif olarak bulunsa da PCR'ın çalışılması gerektiğini düşünmekteyiz. Günümüzü değerlendirdiğimizde; 2011 yılında İstanbul'da poliklinik hastası ve hayat kadını olan 207 kadının 2'sinde (%0.97) DM ile *T. vaginalis* görülmüş ve kültürde üretilmiştir. Bu çalışmada ayrıca 10 yıl öncesine göre gerek hayat kadınlarında, gerekse poliklinik hastalarında trichomoniasis oranının azalmış olduğuna ve bu azalmanın X^2 testine göre anlamlı bulunduğu dikkat çekmişlerdir (114). Aynı şekilde 2011 yılında Sivas'ta yapılan bir çalışmada 258 vajinit ön tanıli hastanın DM yöntemiyle 5'inde (%1,9), kültür yöntemiyle 4'ünde (%1,5) *T. vaginalis* pozitif bulunmuştur (115).

Bu çalışmalara benzer olarak Zarakolu ve arkadaşları da 2010 yılında Ankara'da kayıtlı 146 seks çalışanı kadında hızlı tanı yöntemleri (DM, RPR, OIA) kullanarak, bazı CYBE etkenlerinin sıklığını araştırmışlardır. *T. vaginalis* %0,7, *C. trachomatis* ise

%1,4 oranında saptanırken, gonore ve sifiliz enfeksiyonları saptanmamış ve çalışmada daha önce yapılan çalışmalara göre daha düşük oranlar bulunduğu belirtilmiştir (116).

Son zamanlarda ülkemizde de *T. vaginalis* tanısı için PCR yöntemleri kullanılmaya başlanmıştır. İlk defa 2011 yılında Ertabaklar ve ark. *T.vaginalis* tanısında PCR kullandıklarını, DM ve kültür yöntemleri ile karşılaştırdıklarını bildirmişlerdir. 102 örnekte DM ile %2.94, kültür ile %4.90 ve PCR yöntemi ile %4.90 oranında *T. vaginalis* saptamışlardır. Bizim çalışmamıza benzer olarak bu üç yöntemden bir veya daha fazlası ile olguların %5.88'inde pozitiflik saptamışlardır. Kültür yöntemine göre DM'nin duyarlılığı %60, özgüllüğü %100 olarak bulunurken, PCR'ın duyarlılığı ve özgüllüğü sırasıyla %80 ve %97.95 olarak hesaplanmıştır. Ayrıca, PCR yönteminin rutin tanıda kullanılabilir olacağı sonucuna ulaşmışlardır (117).

Çalışmamızda; *N. gonorrhoeae*, *C.trachomatis*, *T. vaginalis* ve *M. genitalium* etkenleri için sürüntü örneklerinde pozitif çıkan 22 hastanın idrar örneklerinden de etkenler, multipleks PCR yöntemi ile çalışılmıştır. Çok ve tek etken pozitifliği görülen 16 hastanın (%72,7) tam olarak uyumlu olduğu gözlenmiştir. Cook ve arkadaşları, yaptıkları sistematik derlemede, *C.trachomatis* ve *N. gonorrhoeae* için NAAT testlerini non-invaziv olarak elde edilen idrar örneği için araştırmışlardır. Hem erkek hem kadınlarda idrarda uygulanan NAAT testlerinin duyarlılık ve özgüllüğünü *C.trachomatis* için hemen hemen aynı olarak saptamışlar, *N. gonorrhoeae* için ise kadınlarda idrar örneğinden çalışılan NAAT'inin düşük duyarlılık ve özgüllüğe sahip olduğunu, erkeklerin ise idrarda NAAT için invaziv örnekler ile benzer sonuçlar verdiğini bildirmişlerdir (118). DSÖ 2013'te *C. trachomatis* tanısı için idrarda NAAT testlerini hem erkek hem kadın için önerirken, *N. gonorrhoeae* tanısı için kadında NAAT'inde idrar örneğinin suboptimal duyarlılığından dolayı ideal örnek olmadığını bildirmiştir. Erkeklerde *N. gonorrhoea* tanısı için ise idrar örneğini NAAT testleri için önermişlerdir (53).

Takahashi ve ark. Japonya'da 100 asemptomatik erkek hastanın idrar örneğinden PCR yöntemi ile *M. genitalium*, *M. hominis*, *U. urealyticum* ve *U. parvum* araştırmışlar ve etkenler için tanısal oranları sırasıyla %1,3, %5,3, %16,0 ve %29,3 olarak bulmuşlardır. Asemptomatik erkek hastalarda görülen bu oranların gözardı edilmemesi gerektiğini belirtmişlerdir (119). Lee ve ark. 2007 yılında kendi geliştirdikleri bir

multipleks PCR yöntemi ile, 96 CYBE ve prostatit olan erkek hastanın idrar örneklerini çalışmışlar ve kullandıkları bu yöntemin idrar örneklerinde net bir şekilde duyarlı sonuç verdiğini raporlamışlardır (120). Haugland ve ark. *C. trachomatis* etkenini idrar ve servikal örneklerde SDA yöntemini kullanarak karşılaştırmışlar, SDA'nın servikal ve idrar örneklerinde duyarlılığını sırasıyla %89,0 ve %90,2 olarak özgüllüğünü ise %99,2 ve %98,3 olarak bildirmişlerdir. İdrar örneklerinde SDA yöntemi ile yüksek risk gruplarında *C. trachomatis* taramasının uygun olduğunu raporlamışlardır (121).

CYBE tanısında kullanılan konvansiyonel yöntemler uygulaması zor ve zaman alıcı olmasına rağmen günümüzde birçok laboratuvarların kullandığı test yöntemleridir. Çalışmamızda kullandığımız Seeplex[®]STD ACE ve LAB 901 sistemi, konvansiyonel tanı testleri ile karşılaştırıldığında otomatize olması, farklı çeşitlilikte (idrar, semen, akıntı) örneklerin kullanımına olanak sağlaması, tek bir örnek ile 6 farklı CYBE etkenini hızlı bir şekilde tespit edebilmesi nedeniyle avantajlı bir sistem olarak görülmektedir. Agorose jel elektroforezi ile kaybedilen zamanı ve işgücünü azaltmakla birlikte laboratuvar iş akışını da iyileştirmektedir. Bu sistem, CYBE'nin erken tanı ve tedavisini kolaylaştırabilir ve böylece enfeksiyonların yayılımının önlenmesinde yardımcı olabilir (68). NAAT tabanlı multipleks PCR testleri CYBE' da yanlış tanıyı önemli ölçüde azaltmıştır (54). CDC ayrıca CYBE tanısı alan hastalara, sifiliz ve HIV gibi diğer enfeksiyonları da içeren yeni testler yapılmasını önermektedir (31). Bu açıdan da bakıldığında multipleks PCR'ın daha maliyet etkin olduğu düşünülebilir.

Çalışmamızda DPO[™] tabanlı Multipleks PCR'ın yüksek duyarlılığa sahip olduğu ve bazı CYBE'ın tespitinde artışa neden olduğu gözlenmiştir. Bu çalışmada multipleks PCR'ın doğru ve duyarlı sonuçlar vermesi açısından, CYBE'ın tarama veya sürveyansında kullanılabilecek başarılı bir yöntem olduğu düşünülmüştür. Bulaşmayı en aza indirmek için hızlı tanı ve tedavi önemli olduğundan multipleks PCR avantajlı görülmektedir. Ayrıca, non-invaziv olarak elde edilen idrar örnekleri ile invaziv servikal/üretal örnekler arasında multipleks PCR'ın rölatif uyumlu olması dikkat çekmiştir. Bu tür çalışmaların daha fazla sayıda hastada ve farklı hasta gruplarında çalışılması gerektiğini düşünmekteyiz.

Buna karşın yine de her laboratuvar kullanacağı testi ve yöntemini seçerken; hasta profiline, bölgesinde görülen hastalık prevalansına, kullanacağı tanı testlerinin performansına, maliyetine, kolay uygulanabilirliğine göre karar vermelidir.

Ülkemizde, CYBE etkenleri için sağlıklı epidemiyolojik veri bulunmadığından, sorunun boyutunu tam olarak tahmin etmek mümkün değildir. Bazı gruplarda tarama için sağlık bütçesinden bir payın ayrılıp ayrılmaması ile ilgili konuda hala soru işaretleri mevcuttur. Halk sağlığı açısından CYBE için farkındalığı arttırmak önemli ve gereklidir. Toplumda sosyoekonomik yükü azaltmak için çeşitli CYBE etkenlerine karşı korunma ve kontrol programları da oluşturulmalıdır.

KAYNAKLAR

1. World Health Organization (WHO). Sexually transmitted infections (STIs) Fact sheet. Updated May 2013. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs110/en/index.html> (Erişim tarihi, 07.06.2013)
2. Centers for Disease Control and Prevention. Sexually Transmitted Disease Surveillance 2011. Atlanta: US Department of Health and Human Services; 2012. Available from: <http://www.cdc.gov/std/stats09/surv2009-Complete.pdf>. Accessed June 17, 2011.
3. Zarakolu P, Akın A. Cinsel Yolla Bulaşan Hastalıklar: Epidemiyoloji ve Risk Faktörleri. Arman D, Ünal S (eds). Cinsel Yolla Bulaşan Hastalıklar ve Tedavisi. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi; 2004. 9-25.
4. Aral SO, Holmes KK. The Epidemiology of STIs and Their Social and Behavioral Determinants: Industrialized and Developing Countries. In: Holmes KK, Sparling PF, Stamm WE, et al, (eds). Sexually transmitted diseases. New York: Mc Graw Hill, 2008 ; 53-92.
5. Serter D, Gökengin D. Türkiye’de ve dünyada cinsel yolla bulaşan enfeksiyonlar ve HIV/AIDS. *Türkiye Klinikleri J Med Sci*, 2006; 2: 1-5.
6. Ünal S, Zarakolu P. Cinsel Yolla Bulaşan Enfeksiyonlar ve Genel Özellikleri. In: Topçu Willke A, Söyletir G, Doğanay M (eds). Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi 1. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevi, 2008:1549-62.
7. T.C. Sağlık Bakanlığı AÇSAP Genel Müdürlüğü. Cinsel Yolla Bulaşan Enfeksiyonlar (CYBE/HIV/AIDS) Katılımcı Kitabı. Ankara: Ana Çocuk Sağlığı ve Aile Planlaması Genel Müdürlüğü Basımevi; 2009.
8. Anğ Ö. Cinsel Temasla Bulaşan Hastalıkların Sınıflandırılması ve Etkenler. In: Ağaçfıdan A, Anğ Ö (eds). Cinsel Temasla Bulaşan Hastalıklar. İstanbul: Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti, 1999: 37-38.
9. Sönmez E. Genital ve Cinsel Yolla Bulaşan Hastalıklar: Epidemiyoloji ve Risk Faktörleri. Arman D (eds). Genital ve Cinsel Yolla Bulaşan Hastalıklar. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 2007: 9-20.
10. Centers for Disease Control and Prevention. Sexually Transmitted Disease Surveillance 2011. Atlanta: US Department of Health and Human Services; 2012. Available from: <http://www.cdc.gov/std/stats>.
11. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). Sexually transmitted infections in Europe 1990–2010. Stockholm: ECDC; 2012. Available from: <http://www.ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/201206-Sexually-Transmitted-Infections-Europe-2010.pdf>
12. Colson P, Gouriet F, Badiaga S, Tamalet C, Stein A, Raoult D. Real-time laboratory surveillance of sexually-transmissible infections in Marseille University hospitals reveals rise of gonorrhoea, syphilis and human immunodeficiency virus seroconversions in 2012 . *Euro Surveill*. 2013;18(7):pii=20402. Available

online:<http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=20402> (Erişim Tarihi, 04.06.2013).

13. Savage EJ, Marsh K, Duffell S, Ison CA, Zaman A, Hughes G. Rapid increase in gonorrhoea and syphilis diagnoses in England in 2011. Euro Surveill. 2012;17(29):pii=20224. Available from: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=20224> PMID:22835469 (Erişim Tarihi, 04.06.2013)

14. Sutton M, Sternberg M, Koumans EH, McQuillan G, Berman, S, Markowitz LE. The prevalence of *Trichomonas vaginalis* infection among reproductive-age women in the United States, 2001–2004. Clin Infect Dis. 2007;45(10):1319-26.

15. Zarakolu P. Cinsel yolla bulaşan enfeksiyonlar. Hacettepe Tıp Dergisi 2006; 37, 21-34.

16. T.C. Sağlık Bakanlığı, Temel Sağlık Hizmetleri Genel M¼d¼rl¼ę¼. Bulaşıcı Hastalıkların İhbarı ve Bildirim Sistemi. Standart Tanı , S¼rveyans ve Laboratuvar Rehberi. Ankara, 2005.

17. Ağacıdan A, Moncada J, Aydın D, et al. Prevalance of Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae in Turkey among men with urethritis. Sex Transm Dis 2001; 28: 630-2

18. Ortaylı N, Sahip Y, Amca B, Say L, Sahip N, Aydın D. Curable sexually transmitted infections among the clientele of a family planning clinic in Istanbul, Turkey. Sex Transm Dis 2001; 28:58-61.

19. Çiçek C, Bilgiç A, Yaygın YE. Semptomlu hastalarda Chlamyia trachomatis enfeksiyonunun prevalansı.İnfeksiyon Dergisi (Turkish Journal of Infection) 2006; 20 (1): 27-30.

20. Pelit S, Bulut ME, Bayraktar B. Uretrit on tanıli hastalardan izole edilen ureaplasma urealyticum ve mycoplasma hominis suşlarının çeşitli antibiyotiklere karşı duyarlılıklarının belirlenmesi. ANKEM Derg 2010;24:227-30.

21. Sarsar K, Aydın MD. Steril piyurili kadınlarda Ureaplasma urealyticum ve Mycoplasma hominis varlığının araştırılması. ANKEM Derg 2010;24:82-5.

22. Bilir YA, Pehlivanoğlu F, Yaşar KK, et al. Urogenital Semptomları olan Hastalarda Mycoplasma Hominis ve Ureaplasma Urealyticum Sıklığı. Haseki Tıp Bulteni 2011; 49: 99-101.

23. Adiloğlu AK, Önde U, Acar N.Trichomonas vaginalis Tanısında Direkt Mikroskopik İnceleme, Giemsa, Akridin Oranj ve İki K¼lt¼r Yönteminin Karşılaştırılması. Flora 2000;5(1):61-66.

24. Çulha G, Hakverdi AU, Zeteroğlu ř, et al. Vaginal Akıntı ve Kaşıntı şikâyeti Olan Kadınlarda Trichomonas vaginalis Yaygınlığının Araştırılması Türkiye Parazitoloji Dergisi2006; 30 (1): 16-18.

25. Östan İ, Sözen U, Limoncu ME. Manisa’da Vajinal Akıntılı Kadınlarda Trichomonas vaginalis Sıklığı. Türkiye Parazitoloji Dergisi 2005; 29 (1): 7- 9.

26. Tümerdem Y. Cinsel Temasla Bulaşan Hastalıkların Epidemiyolojisi. In: Ağacıdan A, Anę Ö (eds). Cinsel Temasla Bulaşan Hastalıklar. İstanbul: Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti, 1999: 39-52.

27. Bulut A. Cinsel Temasla Bulaşan Hastalıklarda Görülen Risk Faktörleri ve Davranış Modelleri. In: Ağaçfıdan A, Anğ Ö (eds). Cinsel Temasla Bulaşan Hastalıklar. İstanbul: Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti, 1999: 53-60.
28. Gill AR, Ravanfar P, Mendoza N, et al. Sexual Behavior and Psychological Aspects Associated with Sexually Transmitted Infections. In: Gross G, Tying SK (eds). Sexually Transmitted Infections and Sexually Transmitted Diseases. Berlin: Springer, 2011: 35-42.
29. Brunne V. Economic and Political Issues Associated with Sexually Transmitted Diseases In: Gross G, Tying SK (eds). Sexually Transmitted Infections and Sexually Transmitted Diseases. Berlin: Springer, 2011: 885-897.
30. Gewirtzman A, Bobrick B, Conner K, et al. Epidemiology of Sexually Transmitted Infections. In: Gross G, Tying SK (eds). Sexually Transmitted Infections and Sexually Transmitted Diseases. Berlin: Springer, 2011: 13-34.
31. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Sexually transmitted diseases treatment guidelines, 2010. MMWR Morb Mortal Wkly Rep, 2010; 59 (No.RR-12).
32. CDC. Update to CDC's sexually transmitted diseases treatment guidelines, 2006: fluoroquinolones no longer recommended for treatment of gonococcal infections. MMWR 2007;56:332-6.
33. Wang SA, Lee MV, O'Connor N, et al. Multidrug-resistant *Neisseria gonorrhoeae* with decreased susceptibility to cefixime-Hawaii, 2001. Clin Infect Dis 2003;37:849-52.
34. Workowski KA, Berman SM, Douglas JM, Jr. Emerging antimicrobial resistance in *Neisseria gonorrhoeae*: urgent need to strengthen prevention strategies. Ann Intern Med 2008;148:606-13.
35. Bignell C. 2009 European (IUSTI/WHO) guideline on the diagnosis and treatment of gonorrhoea in adults. Int J STD AIDS. 2009;20(7):453-7.
36. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). Gonococcal antimicrobial susceptibility surveillance in Europe – 2010. Stockholm: ECDC; 2012. Available from: <http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/1206-Gonococcal-AMR.pdf>
37. Van de Laar M, Spiteri G. Increasing trends of gonorrhoea and syphilis and the threat of drug-resistant gonorrhoea in Europe. Euro Surveill 2012;17(29):pii=20225. Available from: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=20225> (Erişim Tarihi, 04.06.2013)
38. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). Response plan to control and manage the threat of multidrug resistant gonorrhoea in Europe. Stockholm: ECDC; 2012. Available from: <http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/1206-ECDC-MDR-gonorrhoea-response-plan.pdf> (Erişim Tarihi, 04.06.2013)
39. Unemo M, Golparian D, Nicholas R, Ohnishi M, Gallay A, Sednaoui P. High-level cefixime- and ceftriaxone resistant *N. gonorrhoeae* in Europe (France): novel penA mosaic allele in a successful international clone causes treatment failure. Antimicrob Agents Chemother. 2011; Antimicrob Agents Chemother. 2012 March; 56(3): 1273-1280.

40. Goire N, Lahra MM, Ohnishi M, Hogan T, Liminios AE, Nissen MD, Sloots TP, Whiley DM. Polymerase chain reaction-based screening for the ceftriaxone-resistant *Neisseria gonorrhoeae* F89 strain. *Euro Surveill.* 2013;18(14):pii=20444. Available online: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=20444>.
41. World Health Organization and UNAIDS. Guidelines for Sexually Transmitted Infections Surveillance. WHO/CHS/HSI/99.2, WHO/CDS/CSR/EDC/99.3, UNAIDS/99.33E. World Health Organization and Joint United Nations Programme on HIV/AIDS, Geneva, 1999.
42. İnan D. Cinsel Yolla Bulaşan Hastalıklar: Korunma ve Kontrol. Arman D (eds). *Genital ve Cinsel Yolla Bulaşan Hastalıklar*. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 2007; 119-127.
43. Winn W, Allen S, Janda W, et al. *Neisseria* species and *Moraxella catarrhalis*. In: Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2006; 566-610.
44. Marazzoa JM, Handsfield HH, Sparling PF. *Neisseria Gonorrhoeae*. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds). *Principles and Practice of Infectious Disease*. 7th edition. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2010; 2753- 2770.
45. Özkuyumcu C. (ed). *Neisseria*. Hacettepe Mikrobiyoloji Serisi-1 Klinik Bakteriyoloji El Kitabı. Ankara: Güneş Tıp Kitapevleri, 2009; 93-100.
46. Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH. et al. (2007). *Neisseria*. Klinik Mikrobiyoloji (Çev. eds: A. Başustaoğlu, A. Kubar, ŞT Yıldırım, M. Tanyüksel), Ankara: Atlas Kitapçılık, 2009; 601-620.
47. Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH. et al. (2007). *Chlamydia ve Chlamydophila*. Klinik Mikrobiyoloji (Çev. eds: A. Başustaoğlu, A. Kubar, ŞT Yıldırım, M. Tanyüksel), Ankara: Atlas Kitapçılık, 2009; 1021-1035.
48. Stamm WE, Batteiger BE. *Chlamydia trachomatis* (trachoma, perinatal infections, lymphogranuloma venereum, and other genital infections). In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds). *Principles and Practice of Infectious Disease*. 7th edition. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2010; 2443-2461.
49. ECDC. Chlamydia infections Factsheet for health professionals http://www.ecdc.europa.eu/en/healthtopics/chlamydia/basic_facts/Pages/professionals.aspx (Erişim tarihi, 08.06.2013).
50. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). CDC Fact Sheet Chlamydia. <http://www.cdc.gov/std/chlamydia/STDFact-chlamydia-detailed.htm> (Erişim Tarihi; 09.06.2013).
51. CDC. Guidelines for the laboratory diagnosis of gonorrhea, chlamydia and syphilis. Available at <http://www.aphl.org/aphlprograms/infectious/std/Pages/stdtestingguidelines.aspx>. (Erişim tarihi, 25.05 2013).
52. Johnson RE, Newhall WJ, Papp JR, Knapp JS, Black CM, Gift TL, Steece R, Markowitz LE, Devine OJ, Walsh CM, Wang S, Gunter DC, Irwin KL, DeLisle S, Berman SM. Screening tests to detect *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* infections—2002. *MMWR Recomm Rep*. 2002;51:1–38.

53. WHO. Laboratory diagnosis of sexually transmitted infections, including human immunodeficiency virus 2013. Geneva: WHO; 2013. Available from: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/85343/1/9789241505840_eng.pdf (Erişim Tarihi: 30.7.2013)
54. Lee SJ, Park DC, Lee DS, Choe HS, Cho YH. Evaluation of Seeplex[®] STD6 ACE Detection kit for the diagnosis of six bacterial sexually transmitted infections. DOI 10. 1007/s10156-011-0362-7. (Erişim Tarihi: 30.7.2013)
55. Chun JY, Kim KJ, Hwang IT, Kim YJ, Lee DH, Lee IK, et al. Dual priming oligonucleotide system for the multipleks detection of respiratory viruses and SNP genotyping of CYP2C19 gene. Nucleic Acids Research 2007;35:e40.
56. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. (2008). Tıbbi Mikrobiyoloji (Çev. eds: A.C. Başustaoğlu, şT Yıldiran, M. Tanyüksel, M. Yapar), Ankara: Atlas Kitapçılık, 2010; 421-425.
57. Horner P, Thomas B, Gilroy CB. Role of Mycoplasma genitalium and Ureaplasma urealyticum in acute and chronic nongonococcal urethritis. Clin Infect Dis. 2001;32(7):995-1003.
58. Taylor- Robinson D, Horner P. The role of Mycoplasma genitalium in non-gonococcal urethritis. Sex Transm Inf 2001; 77: 229–231.
59. Svenstrup HF, Jensen JS, Björnelius E, et al. Development of a Quantitative Real-Time PCR Assay for Detection of Mycoplasma genitalium Journal of Clinical Microbiology 2005; 43: 3121–3128.
60. Tully JG, Taylor-Robinson D, Cole RM, Rose DL. A newly discovered mycoplasma in the human urogenital tract. Lancet 1981;1(8233):1288-91.
61. Jensen JS. *Mycoplasma genitalium*: the aetiological agent of urethritis and other sexually transmitted diseases. J Eur Acad Dermatol Venereol 2004;18(1):1-11.
62. Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH. et al. (2007). Mycoplasma, Ureaplasma ve zorunlu hücre içi bakterilerin identifikasyonu için algoritmalar. Klinik Mikrobiyoloji (Çev. eds: A. Başustaoğlu, A. Kubar, şT Yıldiran, M. Tanyüksel), Ankara: Atlas Kitapçılık, 2009; 384-389.
63. Usluer G. Vajinal Enfeksiyonlar. In: Topçu Willke A, Söyletir G, Doğanay M (eds). Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi 1. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevi, 2008:1516-1522.
64. CDC Fact Sheet Trichomoniasis. <http://www.cdc.gov/std/trichomonas/STDFact-Trichomoniasis.htm> (Erişim Tarihi; 09.06.2013).
65. Schwebke JR. Trichomonas vaginalis. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds). Principles and Practice of Infectious Disease. 7th edition. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2010; 3535-3538.
66. Lawing LF, Hedges SR, Schwebke JR. Detection of trichomonosis in vaginal and urine specimens from women by culture and PCR. J Clin Microbiol, 2000;38: 3585-3588.
67. T.C. Sağlık Bakanlığı Ana Çocuk Sağlığı ve Aile Planlaması Genel Müdürlüğü Ulusal Aile Planlaması Hizmet Rehberi Cilt 1 Ankara: Damla Matbaası; 2005, 241-50.

68. Samra Z, Rosenberg S, Madar-Shapiro L. Direct simultaneous detection of 6 sexually transmitted pathogens from clinical specimens by multiplex polymerase chain reaction and auto-capillary electrophoresis. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2011;70:17–21.
69. Granato PA, Vaginitis: Clinical and Laboratory Aspects for Diagnosis. *Clinical Microbiology Newsletter*. 2010; 32(15), 111-116.
70. Tünger Ö, Özbakkaloğlu B, Ecemiş T, Koyuncu F. Vulvo-vajinitli Kadınlarda Maya Mantarlarının Sıklığı ve Türlerine Göre Dağılımı. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 1999; 30:127-30.
71. Kaymak Y, Paşaoğlu A, Erhan M, Çelik B. Polikliniğimize vajinit yakınmasıyla başvuran hastalarda vajinal akıntı etkenlerinin araştırılması. *Gazi Tıp Dergisi* 2005; 16 (3): 114-120.
72. Nemut T, Karadenizli A, Katırcıoğlu İ, Balıkcı E, Bingöl R. Vajinal Akıntı Örneklerinde İzole Edilen Mayaların Tiplendirmesi ve Antifungal Duyarlılıkları. *Klinik Dergisi* 2002;15(2):56-8.
73. Duran N, Çulha G, Çetin M, Zeteroğlu Ş, Güngören A, Hakverdi AU. Genital Enfeksiyon Şüphesi Olan Adölesan ve Yetişkin Kadınlarda Enfeksiyon Etkenleri. *Tıp Araştırmaları Dergisi* 2005;3(2):13-9.
74. Elliot KA. Managing patients with vulvovaginal candidiasis. *Nurse Pract* 1998; 23(3):44-6.
75. Sobel JD. Vulvovaginal candidosis. *Lancet* 2007; 369:1961–71.
76. Kennedy MA, Sobel JD. Vulvovaginal Candidiasis Caused by Non-*albicans Candida* Species: New Insights. *Current Infectious Disease Reports* November 2010; 12 (6): 465-470.
77. Horii T, Ohtsuka H, Osaki M, Ohkuni H. Use of a dual priming oligonucleotide system to detect multiple sexually transmitted pathogens in clinical specimens. *Lett Appl Microbiol* 2009;49:46–52.
78. Kim SJ, Lee DS, Lee SJ. The Prevalence and Clinical Significance of Urethritis and Cervicitis in Asymptomatic People by Use of Multiplex Polymerase Chain Reaction. *Korean J Urol* 2011;52:703-708.
79. Cosentino, L.A., Landers, D.V. and Hillier, S.L. Detection of Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae by strand displacement amplification and relevance of the amplification control for use with vaginal sürüntü specimens. *J Clin Microbiol* 2003;41: 3592–3596.
80. Johnson, R.E., Green, T.A., Schachter, J., Jones, R.B., Hook, E.W. III, Black, C.M., Martin, D.H., St. Louis, M.E. et al. (2000) Evaluation of nucleic acid amplification tests as reference tests for Chlamydia trachomatis infections in asymptomatic men. *J Clin Microbiol* 2000; 38:4382–4386.
81. Nelson S, Matlow A, Johnson G, Th'ng C, Dunn M, Quinn P. Detection of *Ureaplasma urealyticum* in Endotracheal Tube Aspirates from Neonates by PCR. *J Clin Microbiol* 1998;1236–1239.
82. Cunliffe N. A, Fergusson S, Davidson F, Lyon A, Ross P.W. Comparison of culture with the polymerase chain reaction for detection of *Ureaplasma urealyticum* in

endotracheal aspirates of preterm infants. J. Med Microbiol 1996;45: 27-30.

83. Teng K, Li M, Yu W, et al. Comparison of PCR with Culture for Detection of *Ureaplasma urealyticum* in Clinical Samples form Patients with Urogenital Infections J Clin Microbiol 1994;2232–2234.

84. Stellrecht, K.A, Woron A.M, Mishrik, N.G, Venezia R.A. Comparison of multipleks PCR assay with culture for detection of genital mycoplasmas. J Clin Microbiol 2004;42:1528–1533.

85. Peeling RW, Holmes KK, Mabey D. Rapid tests for sexually transmitted infections (STIs): the way forward. Sex Transm Infect 2006;82:v1-v6.

86. Dansuk Z, Bahar G, Gürbüz OA. et al. Üretral akıntı şikayeti ile başvuran hastalarda *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma urealyticum* ve *Mycoplasma hominis* etkenlerinin sıklığının araştırılması. Flora 2002; 7(4):252-256.

87. Johnson RE, Green TA, Schachter J, Jones RB et al. Evaluation of nucleic acid amplification tests as reference tests for *Chlamydia trachomatis* infections in asymptomatic men. J. Clin. Microbiol 2000; 38 (12):4382–4386.

88. Schachter J, Stamm WE, Quinn TC. Discrepant analysis and screening for *Chlamydia trachomatis*. Lancet 1998; 35 (9097):217.

89. Ağaçfıdan A. Chlamydia İnfeksiyonlarının Laboratuvar Tanısı. Flora 1997;1:27-34.

90. Ağaçfıdan A. Cinsel yolla bulaşan hastalıklarda laboratuvarda tanı olanakları. ANKEM Derg 2012; 26(EK 2): 189-197.

91. Ürünsak M, Akan E, Serin MS, Ürünsak İ, Öksüz H, Köksal F. Genital Chlamidyal enfeksiyonlarda polimeraz zincir reaksiyon (PCR)’ın tanı değeri. Flora 1997;4:273-277.

92. Shokohizadeh S, Yiğit S, Pekmezci D, Yarkin F. Hayat kadınlarında *Chlamydia trachomatis* enfeksiyonlarının tanısında ELISA ve PCR’nun karşılaştırılması. Ç.Ü. Tıp Fakültesi Dergisi 2000;25: 131-134.

93. Baksu B, Baksu A, Çınar S, Ağar E, Davas İ, Akvardar T. Servisit olgularında *Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma urealyticum* ve *Mycoplasma hominis*. Türk fertilite dergisi 2004; 12(2): 269-272.

94. Özdemir M, Doğan M, Solgun G, Çapar M, Baysal B. İnertil Hastaların Servikal Sürüntü Örneklerinde *Chlamydia* Antijenlerinin ve *Mycoplasma-Ureaplasma*’ların Antibiyotik Duyarlılıklarının Araştırılması. Flora 2007;12(4):185-189.

95. Altındış M, Tanır HM. Vajinal akıntısı olan kadınlarda *Mycoplasma hominis* ve *Ureaplasma urealyticum* sıklığının ve antimikrobiyallere direnç durumlarının saptanması. Türk Hij Den Biyol Derg 2001;58(1); 15-20.

96. Karaarslan A, Cengiz L, Cengiz AT, Aykut E, Boyacıoğlu İ. *Mycoplasma hominis* ve *Ureaplasma urealyticum* izolasyonunda A7- agar kültür yöntemi ile Mycofast testinin karşılaştırılması. Mikrobiyol Bült 1998; 32: 23-8.

97. Turan H, Özçimen EE, Arslan H. Vajinitli kadınlarda *Mycoplasma hominis* ve *Ureaplasma urealyticum* sıklığı ve antimikrobiyal duyarlılığı. ANKEM Derg 2011;25(1):17-21.
98. Biernat-Sudolska M, Rojek-Zakrzewska D, Lauterbach R. Assessment of various diagnostic methods of ureaplasma respiratory tract infections in newborns Acta Biochimica Polonica 2006;53(3):609–612.
99. Rastawicki W, Kalota H, Jagielski M, Gierczyński R. Comparison of polymerase chain reaction assay and Mycoplasma IST 2 test with culture for detection of infections caused by *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis*. Med Dosw Mikrobiol 2004;56(1):99-108.
100. Xiao L, Glass JI, Paralanov V. et al. Detection and Characterization of Human *Ureaplasma* Species and Serovars by Real-Time PCR. Journal of Clinical Microbiology 2010; 48(8); 2715–2723.
101. Green TA, Black CM, Johnson RE. Evaluation of bias in diagnostic-test sensitivity and specificity estimates computed by discrepant analysis. J. Clin. Microbiol 1998; 36 (2): 375-381.
102. Gdoura R, Kchaou W, Chaari C, Znazen A, Keskes L, Rebai T, et al. *Ureaplasma urealyticum*, *Ureaplasma parvum*, *Mycoplasma hominis* and *Mycoplasma genitalium* infections and semen quality of infertile men. BMC Infect Dis 2007;7:129.
103. Manhart LE. Has the time come to systematically test for *Mycoplasma genitalium*? Sex Transm Dis 2009;36(10):607–8.
104. Taylor-Robinson D, Gilroy CB, Thomas BJ, et al. *Mycoplasma genitalium* in chronic non-gonococcal urethritis. Int J STD AIDS 2004;15:21–5.
105. Dupin N, Bijaoui G, Schwarzsinger M, et al. Detection and quantification of *Mycoplasma genitalium* in male patients with urethritis. Clin Infect Dis 2003;37:602–5.
106. Hooton TM, Roberts MC, Roberts PL, Holmes KK, Stamm WE, Kenny GE. Prevalence of *Mycoplasma genitalium* determined by DNA probe in men with urethritis. Lancet 1988;1(8580):266-8.
107. Wikström A, Jensen JS. *Mycoplasma genitalium*: a common cause of persistent urethritis among men treated with doxycycline. Sex Transm Infect 2006;82:276-9.
108. Gaydos C, Maldeis NE, Hardick A, et al. *Mycoplasma genitalium* as a contributor to the multiple etiologies of cervicitis in women attending sexually transmitted disease clinics. Sex Transm Dis 2009;36(10):598–606.
109. Hobbs MM, Lapple DM, Lawing LF, et al. Methods for detection of *Trichomonas vaginalis* in the male cervical swab of infected women: implications for control of trichomoniasis. Journal of Clinical Microbiology, 2006, 44(11):3994–3999.
110. Van Der PB, Kraft CS, Williams JA. Use of an adaptation of a commercially available PCR assay aimed at diagnosis of chlamydia and gonorrhea to detect *Trichomonas vaginalis* in urogenital specimens. J Clin Microbiol 2006;44(2):366–73.

111. Hardick A, Hardick J, Wood BJ, et al. 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 sürüntü samples and male urine samples. J Clin Microbiol 2006;44(11):4197–4199.
112. Nye MB, Schwebke JR, Body BA. Comparison of APTIMA *Trichomonas vaginalis* transcription-mediated amplification to wet mount microscopy, culture, and polymerase chain reaction for diagnosis of trichomoniasis in men and women. Am J Obstet Gynecol 2009;200(2):188–97.
113. Ertabaklar H, Ertuğ S, Kafkas S, Odabaşı A, Karataş E. Vajinal Akıntılı Olgularda *Trichomonas vaginalis* Araştırılması, Türkiye Parazitoloj Derg 2004; 28(4): 181-4.
98. Biernat-Sudolska M, Rojek-Zakrzewska D, Lauterbach R. Assessment of various diagnostic methods of ureaplasma respiratory tract infections in newborns Acta Biochimica Polonica 2006;53(3):609–612.
114. Polat E, Sirekbasan S, Yıldırım Z, Bağdatlı Y et al. İstanbul’da kadın hastalıkları hastaları ile hayat kadınlarında *Trichomonas vaginalis* görülme sıklığının 10 yıl önceki oranla karşılaştırılması. Türkiye Parazitoloj Derg 2011; 35: 68-71.
115. Değerli S, Şalk S, Malatyalı E. Sivas’ta vaginit ön tanılı hastalarda *Trichomonas vaginalis* sıklığı. Türkiye Parazitoloj Derg 2011; 35: 145-7.
116. Zarakolu P, Alp Ş, Yağcı S. Ankara ilinde kayıtlı seks çalışanı kadınlarda iyileştirilebilir cinsel yolla bulaşan enfeksiyonların sıklığı Mikrobiyol Bul 2010; 44: 117-121.
117. Ertabaklar H, Caner A, Doşkaya M et al. Trichomoniasis tanısında polimeraz zincir reaksiyonu ile Mikroskopik ve kültür yöntemlerinin karşılaştırılması. Türkiye Parazitoloj Derg 2011; 35: 1-5.
118. Cook RL, Hutchison SL, Qstergaard L et al. Systematic Review: Noninvasive Testing for Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae. Annals of Internal Medicine 2005; 142(11): 914-925.
119. Takahashi S, Takeyama K, Miyamoto S et al. Detection of Mycoplasma genitalium, Mycoplasma hominis, Ureaplasma Urealyticum, and Ureaplasma parvum DNAs in urine from asymptomatic healthy young Japanese men. J Infect Chemother 2006;12:269-271.
120. Lee SR, Chung JM, Kim YG. Rapid one step detection of pathogenic bacteria in urine with sexually transmitted disease (STD) and prostatitis patient by multiplex PCR assay (m PCR). The Journal of Microbiology 2007; 45(5): 453-459.
121. Haugland S, Thune T, Fosse B et al. Comparing urine samples and cervical sürüntüs for chlamydia testing in female population by means of strand displacement assay (SDA). BMC Women’s Health 2010; 10: 9.
122. Ayhan N, Başbuğ N, Hakbilen S, 1996. Vajinal akıntılarının mikrobiyolojik değerlendirilmesi. Türk Hij Den Biyol Derg 53:7-11.

123. Suay A, Yayla M, Mete Ö, Elçi S. 300 hayat kadınında direkt mikroskopi ve kültür yöntemleriyle *Trichomonas vaginalis* ve buna bağlı olarak Trikomoniyaz'ın araştırılması. *T Parazitol Derg* 1995; 19(2): 170-3.
124. Aksoy Ü, Akısü Ç, İnci A, Celiloğlu M. Vajinal akıntılı hastalarda *Trichomonas vaginalis* araştırılması. *DEU Tıp Fak Derg* 2002; 16(2):81-84.
125. Akarsu GA, Çelik T, Güngör Ç, Altıntaş K. Ankara'da çalışan genelev kadınlarında *Trichomonas vaginalis* sıklığı. *T Parazitol Derg* 2003; 27(4): 252-254.
126. Daldal N, Karaman Ü, Atambay M, 2002. Malatya'da konsomatris olarak çalışan kadınlarda *Trichomonas vaginalis* insidansı. *İnönü Üniv Tıp Fak Derg*, 9(1): 21-24.

EK-1

Cinsel Yolla Bulaşan Enfeksiyon Etkenlerinin tanısında kullanılan konvansiyonel yöntemler ve DPO™(Dual priming oligonükleotid) tabanlı Multiplex PCR yönteminin karşılaştırılması	
TEZ ANKET FORMU	
1- Ad Soyad:	
2- Yaş:	
3- Cinsiyet: ☐ Kadın ☐ Erkek	
4- Eğitim durumu: ☐ Okuma-yazma bilmiyor ☐ Sadece Okuma-yazma biliyor ☐ İlkokul ☐ İlköğretim ve dengi	
☐ Lise ve dengi ☐ Yüksekokul veya fakülte ☐ Lisansüstü-Doktora	
5- Cinsel aktiflik durumu: ☐ Evli ☐ Cinsel aktif ☐ Cinselaktif değil	
6- Meslek:	
☐ Öğrenci ☐ İşçi ☐ Memur ☐ Sağlık çalışanı ☐ Seks işçisi ☐ Diğer:.....	
7- İkametgah il / ilçe:	
8- Hamilelik: ☐ Evet ☐ Hayır	
9- İnfertilite: ☐ Var ☐ Yok	
10- Varsa küretaj sayısı:	
11- Sigara kullanımı ☐ Evet ☐ Hayır	
12- Semptomlar: Ne zaman başladı?..... Süresi :..... Gelişmesi:	
Vajinal / üratral akıntı ☐ Evet ☐ Hayır	
Evet ise renk belirtiniz:....., görünüm belirtiniz: pürülan, bulanık, mukoid, homojen, diğer:.....	
Akıntıda balık kokusu ☐ Evet ☐ Hayır	
Dizüri ☐ Evet ☐ Hayır	
Pollaküri ☐ Evet ☐ Hayır	
Noktüri ☐ Evet ☐ Hayır	
Ejeksiyon sırasında ağrı ☐ Evet ☐ Hayır	
Kaşıntı ☐ Evet ☐ Hayır	
Genital ülser ☐ Evet ☐ Hayır	
Genital siğil ☐ Evet ☐ Hayır	
İlişki esnasında ağrı ☐ Evet ☐ Hayır	
İlişki esnasında kanama ☐ Evet ☐ Hayır	
Alt abdominal ağrı ☐ Evet ☐ Hayır	
Diğer:.....	
Benzer semptomlar önceden de var mı? ☐ Evet ☐ Hayır	
Cinsel eş/eşlerde de benzer semptomlar var mı? ☐ Evet ☐ Hayır	
Cinsel Eşinizde son üç ay içinde bu semptomlar oldu mu? ☐ Evet ☐ Hayır	
Cinsel Eşiniz bu nedenler için tedavi oldu mu? ☐ Evet ☐ Hayır	
13- İlk cinsel ilişkiye girme yaşı:	
14- Son 3 Ayda Seksüel Aktivite:	
☐ Haftada 3-5 ☐ Haftada 1-2 ☐ Ayda 3-4 ☐ Ayda 1-2 ☐ Ayda 1'den az ☐ Hiç	
15- En son cinsel ilişkinin zamanı – düzenli/rasgele/yeni bir cinsel eş mi?	
Belirtiniz:	
16- Şüpheli cinsel ilişki: ☐ Evet ☐ Hayır	
17- Cinsel partner sayısı: ☐ Bir ☐ Birden fazla	
18- Antibiyotik kullanımı (Son bir hafta içinde): ☐ Evet ☐ Hayır	
19- İntrauterin araç varlığı: ☐ Evet ☐ Hayır	
20- Son jinekolojik müdahale zamanı: ☐ Evet ☐ Hayır	
21- Genital bölge temizliği	
☐ Hergün ☐ İki günde bir ☐ Haftada bir ☐ Diğer:.....	
22- Gebeliği önleyici yöntem kullanma durumu: ☐ Evet ☐ Hayır	
☐ Kondom ☐ Oral Kontraseptif ☐ RIA ☐ Diğer:.....	
23- CYBH geçirme öyküsü: ☐ *Var ☐ Yok	
*Belirtiniz:	
24- Migrasyon öyküsü : ☐ Var ☐ Yok	
25- Gelir Durumu (Aylık):	
26- Ön tanı ve şüphelenilen patojen :	
Görüşmeyi Yapan:	Anket Tarihi: