



## Trikomoniyaz tanısında farklı laboratuvar yöntemlerinin kullanılması ve Trikomoniyaz hastalarında miRNA profilinin belirlenmesi

Hasan Turgut<sup>1</sup>, Fadime Eroglu<sup>2</sup>

1 Avrasya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi, Üroloji Polikliniği Trabzon, Türkiye

2 Aksaray Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Parazitoloji Abd., Aksaray, Türkiye

Geliş: 05.10.2023; Revizyon: 02.02.2024; Kabul Tarihi: 08.02.2024

### Öz

**Amaç:** Türkiye'nin kuzeyinde yer alan Karadeniz Bölgesinde yapılan bu çalışmada trikomoniyaz tanısında kullanılan laboratuvar yöntemlerini karşılaştırmak, sosyo-demografik özelliklerin ve cinsellikte çok eşliliğin hastalığın yaygınlığına etkisini araştırmak, trikomoniyaz hastalarında immün yanıt oluşumunda rol oynayan T ve B hücrelerini aktive eden miRNA profilini belirlemek amaçlanmıştır.

**Yöntemler:** Çalışma için 2018-2023 yılları arasında üroloji polikliniğine üretral akıntı şikayeti ile başvuran 86 erkek hastadan idrar örneği alınırken, eşlerinden de vajinal sürüntü örnekleri alınmıştır. Klinik örnekler mikroskopik inceleme, kültür, PCR ve gerçek zamanlı PCR yöntemleri ile analiz edilmiştir. Hastalardaki miRNA analizini belirlemek için alınan kan örnekleri miRNA kitlerinin (Qiagen, Hilden, Almanya) kullanma talimatlarına göre hazırlandıktan sonra miRNA analiz cihazında (Fluidigm, Almanya) hastaların miRNA profili belirlenmiştir.

**Bulgular:** Gerçek zamanlı PCR yönteminin pozitif prediktif değeri %17,4 ve duyarlılığı ise %100 bulunmuş olup trikomoniyaz tanısında kullanılabilir en duyarlı test olduğu saptanmıştır. Çalışmada sosyo-demografik özelliklerin trikomoniyaz yaygınlığına etkisinin olmadığı, ancak cinsellikte çok eşliliğin hastalığın yaygınlığına etkili olduğu görülmüştür. Trikomoniyaz hastalarında T ve B hücrelerini aktive eden 60 miRNA'nın 20'sinin düşük seviyelerde ekspresyona, 11'inin ise yüksek seviyelerde ekspresyona ve 29'unun ise değişmediği saptanmıştır.

**Sonuç:** Trikomoniyazın laboratuvar tanısında gerçek zamanlı PCR yöntemi kullanılarak hastalığa erken ve hızlı tanı konulabilir. Böylece hastalık erken tedavi edilerek, hastalığın yayılması ve halk sağlığı sorunu olması önlenebilir. Trikomoniyaz hastalarında T ve B hücrelerini aktive eden miRNA'ların ekspresyon seviyelerinin belirlenmesi ile hastalığın immünitesi hakkında yeni bilgiler elde edilmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Trikomoniyaz, laboratuvar tanısı, T ve B hücreleri, miRNA

DOI: 10.5798/dicletip.1451668

**Yazışma Adresi / Correspondence:** Fadime Eroglu, Aksaray Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Parazitoloji Abd., Aksaray, Türkiye e-mail: eroglufadime@hotmail.com

## Using different laboratory methods in the diagnosis of Trichomoniasis and determining the miRNA profile in Trichomoniasis patients

### Abstract

**Objective:** The aim of this study conducted in the Karadeniz Region in north of Turkey, was to compare the laboratory methods used in the diagnosis of trichomoniasis, to investigate the effects of socio-demographic characteristics and sexual polygamy on the prevalence of the disease, and to determine the miRNA profile that activates T and B cells that form the immune response in patients with trichomoniasis.

**Methods:** Urine samples were collected from 86 male patients who presented to the urology clinic with complaints of urethral discharge between 2018 and 2023, while vaginal swabs were collected from their wives for the study. The clinical samples were analyzed by microscopic examination, culture, PCR and real-time PCR methods. The blood samples collected for miRNA analysis were prepared according to the miRNA kit instructions for use (Qiagen, Hilden, Germany), and the miRNA profile of the patients was determined using the miRNA analyzer (Fluidigm, Germany).

**Results:** The positive predictive value and sensitivity of the real-time PCR method were 17.4% and 100%, respectively, and it was found to be the most sensitive test that can be used for the diagnosis of trichomoniasis. The study found, that sociodemographic characteristics had no effect on the prevalence of trichomoniasis, but sexual polygamy had an effect on the prevalence of the disease. Of the 60 miRNAs that activate T and B cells in trichomoniasis patients, 20 were downregulated, 11 were upregulated and 29 were left unchanged.

**Conclusion:** The use of the real-time PCR method in the laboratory diagnosis of trichomoniasis, enables early and rapid diagnosis of the disease. This allow, the disease to be treated early, preventing it the disease from spreading and becoming a public health problem. New information about the immunity of the disease was obtained by determining the expression levels of miRNAs that activate T and B cells in trichomoniasis patients.

**Keywords:** Trichomoniasis, laboratory diagnosis, T and B cells, miRNA.

### GİRİŞ

Trichomonas vaginalis (T. vaginalis) protozoonun neden olduğu Trikomoniyaz, dünya çapında yaygın olarak görülen cinsel yolla bulaşan enfeksiyonlardan biridir<sup>1</sup>. Türkiye Sağlık Bakanlığı verilerine göre cinsel ilişki yaşının küçülmesi, evlilik dışı veya öncesi cinsel ilişki ve dolayısıyla cinsel eş sayısındaki artış, seyahat imkânlarının yaygınlaşması, prezervatif dışı doğum kontrol yöntemlerinin kullanılmasına bağlı olarak ülkemizde ve dünya genelinde cinsel yolla bulaşan enfeksiyonlarda artış görülmektedir<sup>2</sup>.

Trikomoniyazlı hastalarda oluşan T-B hücre immun yanıtları ve antikoru bu enfeksiyonun klinik semptomlarını, tanı ve tedavisini etkileyebilmektedir<sup>3</sup>. Gen ekspresyonunun transkripsiyon sonrası düzenlenmesinde işlev gören 21-23 nükleotit uzunluğundaki mikroRNA (miRNA), T ve B hücrelerini aktive

ederek, konak-parazit ilişkisinin bağışıklık tepkisini oluşturarak enfeksiyonun tanı ve tedavisinde önemli bir rol oynayabilir<sup>4</sup>. miRNA'lar hücrelerin gelişmesi, farklılaşması, yaşlanması veya ölümleri gibi çeşitli biyolojik olayların kontrolünde görev almaktadır. İnsanlardaki miRNA ekspresyon seviyelerinde oluşan artışlar ve azalışlar hastalıkların patofizyolojisini ve prognozunu etkileyebilmektedir<sup>5</sup>. Bu nedenle çeşitli hastalıklarda miRNA profillerinin belirlenmesi hastalığın prognozunun belirlenmesinde ve tedavi yöntemlerinin geliştirilmesinde önemlidir.

Trikomoniyaz sonucunda, kadınların adneks, endometriyum, skene ve bartolin bezleri, erkeklerin ise epididimleri ve prostatları enfekte olabilmekte ve sperm sayısı azalabilmektedir<sup>6</sup>. Trikomoniyaz, hastalarda

çeşitli klinik semptomlar ile kendini gösterebildiği gibi, enfekte kişilerde asemptomatik olarak da seyredilmektedir. Bu nedenle trikomoniyaz tanısında laboratuvar yöntemleri önemlidir. Trikomoniyaz tanısında direkt mikroskopik inceleme, kültür ve serolojik yöntemler ile moleküler yöntemler kullanılmaktadır<sup>7</sup>. Çalışmada trikomoniyaz tanısında kullanılan laboratuvar tanı yöntemlerinin duyarlılığını karşılaştırmak, sosyo-demografik özelliklerin ve çok eşliliğin enfeksiyonun görülme sıklığına etkisini araştırmak ve hastalarda oluşan miRNA profilini belirlemek amaçlanmıştır.

## YÖNTEMLER

### Hasta Populasyonu ve Örneklerin Toplanması

Çalışma için Necmettin Erbakan Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurul onayı (Karar no: 2020/2965-122) alındıktan sonra, üretral akıntı şikayeti ile üroloji polikliniğine 2018-2023 yılları arasında başvuran 86 erkek hasta ve eşleri çalışmaya dahil edilmiştir. Erkek hastalardan idrar örnekleri alınırken, kadın hastalardan vajinal sürüntü örnekleri alınmıştır. Çalışmaya dahil olan gönüllülerin sosyo-demografik (cinsiyet, yaş, eğitim düzeyi) özellikleri ve cinsel yaşamları (ilk seks yaşı, son 12 aydaki cinsel partner sayısı ve prezervatif kullanımı) ile ilgili bilgiler sorgulanmıştır.

### Mikroskopik İnceleme

Mikroskopik inceleme için alınan klinik örneklerden iki adet yayma preparatları hazırlanmıştır. Preparatlardan biri serum fizyolojik yöntemi ile X40'lık büyütmede, diğer preparat ise Giemsa boyası ile boyanarak X100'ük büyütmede incelenmiştir. T. vaginalis trofozoitleri (trichomonad) bulunan örnekler mikroskopik incelemeye göre pozitif kabul edilmiştir.

### Kültür

Tripticase yeast extract maltose (TYM) besiyerleri her tüpe 5 ml olacak şekilde dağıtılmış ve çalışma için kullanılmıştır. Klinik örneklerin ekimi yapılmadan önce TYM besiyerleri oda sıcaklığında bekletilip, üzerlerine 1000U/ml penisilin, 1 mg/ml streptomisin, 1 mg/ml triflucan ilave edilmiştir. Klinik örneklerin ekimi yapıldıktan sonra besiyerleri 37°C'de inkübe edilmiş ve yedi gün boyunca 24 saat ara ile her tüpten alınan örneklerde üreme olup olmadığı Thoma lamı kullanılarak kontrol edilmiştir.

### Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

Klinik örneklerden DNA izolasyonu QIAamp DNA Mini Kit'inin (Qiagen, Hilden, Almanya) kullanma talimatlarına göre yapılmıştır. PCR analizi için T. vaginalis parazitinin ITS gen bölgesi hedef alınmış ve TVITSF (5'-ACCGCCGTCGCTCCTACCGA-3') ve TVITSR (5'-CTCCGCTTAATGAGATGCTTC-3') primerleri kullanılmıştır<sup>8</sup>. Amplifikasyon reaksiyonu için, 1 pmol forward primer, 1 pmol reverse primer, 1.5 U Taq DNA polimeraz, 0.5 mM dNTP, 2 mM MgCl<sub>2</sub> ve 10 X Taq buffer (Fermentas, ABD)'dan oluşan toplam 25 µL hacimde PCR reaksiyonu hazırlanmıştır. PCR reaksiyon karışımı yaklaşık 3 saat süren ilk başlangıcı 95°C'de 5 dk olan, bunu takiben 35 döngüden oluşan 95°C'de 45 sn, 55°C'de 45 sn ve 72°C'de 3 dk içeren ısı döngü programında analiz edilmiştir. PCR ürünleri %1,5'lik agaroz jel elektroforezi kullanılarak ultraviyole ışık altında görüntülenmiştir.

### Gerçek Zamanlı PCR Analizi

T. vaginalis parazitinin serin hidrosimetiltransferaz geni hedef alınmış ve 105 bp uzunluğunda band oluşturan TV109540-F(5'-CCATCAAGAGCATGCTTAGCTGC-3'), TV109540-R(5'-GTTCATCAACGTATTTGGTGCTCCA-3') primerleri ve TaqMan probu TVAG109540-

TP(5'-AGTATGCGGAAGGATATCAGGTGCTTCGC-3') kullanılmıştır<sup>9</sup>. Reaksiyon karışımı için 2x QuantiTaqMan PCR tamponu (Qiagen, Hilden, Almanya), 1 µM forward primer, 1 µM reverse primer, 0,5 µM prob, 5 µL DNA örneği ve 4 µL saf su içeren toplam 20 µL karışım hazırlanmıştır. İlk denatürasyonu 95°C'de 5 dk, son uzaması 72°C'de 10 dk olan 35 döngüden (95°C'de 5 dk, 60°C'de 1 dk, 72°C'de 10 dk) oluşan ısı döngü programı ile DNA örnekleri amplifiye edilmiştir. Gerçek zamanlı PCR reaksiyonun sonuçları değerlendirilirken, eşik döngü değeri (Ct ≤26) olan klinik örnekler pozitif, (Ct >26) olan örnekler ise negatif kabul edilmiştir.

### miRNA Analizi

Çalışmada Qiagen miScript MicroFluidics PCR kitindeki T ve B hücrelerini aktive eden miRNA paneli (Fluidigm, Almanya) kullanılmıştır (Tablo 1). Trikomoniyaz tanısı alan hastalardan miRNA analizleri için yaklaşık 10 ml tam kan örneği alınmıştır. Sağlıklı kontrol grubu olarak da daha önce hiç trikomoniyaz tanısı almamış, herhangi bir kronik hastalığı olmayan kişilerden kan örnekleri alınmıştır. Kan örnekleri 3500 rpm'de santrifüj edildikten sonra elde edilen serum örneklerinden Rneasy Mini Kit (Qiagen, Hilden, Almanya) kullanılarak RNA'lar izole edilmiştir. MiScript II-RT kiti (Qiagen, Hilden, Almanya) kullanılarak RNA'lar cDNA'ya; cDNA örnekleri ise MiScript Microfluidics PreAmp kiti (Qiagen, Hilden, Almanya) kullanılarak cRNA'lara dönüştürülmüştür. Örnekler miScript Microfluidics Universal Primer, tahlil yükleme reaktifi ve Rnaz içermeyen sudan oluşan reaksiyon karışımı hazırlandıktan sonra miRNA analiz cihazına (Fluidigm, Almanya) yükleme yapılmıştır. miRNA değerleri Flexsix GE Chipi Fluidigm (Biomark) sistemi ile istatistiksel olarak hesaplanmış ve elde edilen Ct değerleri ısı döngü programının yazılım sistemi kullanılarak (<http://www.qiagen.com/us/shop/genes-and-pathways/data-analysis->) analiz edilmiştir.

**Tablo I:** Çalışmadaki Trikomoniyaz hastalarındaki T ve B hücrelerini aktive eden miRNA'ların isimleri

T ve B hücrelerini aktive eden miRNA isimleri		
T hücrelerini aktive edenler	aktive	B hücrelerini aktive edenler
let-7b-5p	miR-98-5p	let-7a-5p
let-7d-5p	miR-126-3p	let-7g-5p
let-7e-5p	miR-128	let-7i-5p
miR-15a-5p	miR-130b-3p	miR-15b-5p
miR-16-5p	miR-139-5p	miR-19b-3p
miR-17-3p	miR-146-5p	miR-20a-5P
miR-17-5p	miR-147a	miR-20b-5p
miR-18a-5p	miR-148a-3p	miR-21-5p
miR-19a-3p	miR-150-5p	miR-25-3p
miR-23a-3p	miR-155-5p	miR-28-5p
miR-23b-3p	miR-181a-5p	miR-29c-3p
miR-24-3p	miR-181b-5p	miR-30e-5p
miR-26b-5p	miR-181c-5p	miR-34a-5p
miR-27b-3p	miR-181d	miR-101-3p
miR-27a-3p	miR-182-5p	miR-106b-5p
miR-29a-3p	miR-223-3p	miR-125b-5p
miR-29b-3p		miR-132-3p
miR-30b-5p		miR-142-3p
miR-31-5p		miR-142-5p
miR-30d-5p		miR-145-5p
miR-92a-3p		miR-195-5p
miR-93-5p		miR-214-3p

### İstatistiksel Analiz

Klinik örneklerin tanımlanması ve sonuçların değerlendirilmesi için SPSS 13.0 programı (SPSS Inc., Chicago, IL, ABD) kullanılarak tanımlayıcı istatistikler ile analiz yapılmıştır. Çalışmaya dâhil edilen hastaların sosyo-demografik özellikleri ve laboratuvar analiz sonuçlarında elde edilen sayısal veriler sıklık ve yüzde olarak ifade edilmiştir. Trikomoniyaz tanısında kullanılan laboratuvar yöntemlerinin sonuçları ki-kare testi ile karşılaştırılmış olup, istatistiksel anlamlılık için p<0.05 kabul edilmiştir.

### BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen hastaların yaşları 18 ile 68 arasında değişmekte olup, kadınlardaki yaş ortalaması 32,2 ±18,3 yıl, erkeklerdeki yaş ortalaması ise 29,3±17,2 olarak saptanmıştır (p<0.05). Hastaların eğitim durumları karşılaştırıldığında, kadın hastaların %20,9

(18/86)'unun, erkeklerin ise %14,0 (12/86)'ünün lisans eğitiminden daha alt bir eğitimde oldukları görülmüştür. Hastaların ilk cinsel deneyimleri sorgulandığında; kadın hastaların %4,7 (4/86)'sinin ilk cinsel deneyimlerini 18 yaşından küçük yaşadığı, %95,3 (82/86)'ünün 18 yaşından büyük yaşlarda yaşadığı ortaya çıkmıştır. Erkek hastaların %15,1 (13/86)'inin ilk cinsel ilişkisini 18 yaşından küçük, %84,9 (73/86)'unun ise ilk cinsel ilişkisini 18 yaşından büyük yaşadıkları bulunmuştur. Çalışmada, erkek hastaların %41,9 (36/86)'unun cinsel ilişki sırasında prezervatif kullanmadığı, %58,1 (50/86)'nin ise cinsel ilişki sırasında prezervatif kullandığı belirlenmiştir. Ayrıca çalışmaya dâhil edilen erkek hastaların %10,5 (9/86)'inin son 12 ay içerisinde eşlerinden başka partnerler ile cinsel ilişkiye girdiği saptanmıştır. Trikomoniyaz görülen kadın hastaların hiçbirinin cinsel hayatında çok eşlilik saptanmamıştır. Hastaların sosyo-ekonomik durumları ve cinsel ilişki durumları ile ilgili bilgiler tablo 2'de verilmiştir.

**Tablo II:** Çalışmaya dahil edilen hastaların sosyo-demografik özellikleri

Özellikler	Erkek	Kadın
<b>Yaş</b>	29,3±17,2	32,2±18,3
<b>Eğitim</b>		
<Lisans	14,0	20,9
≥Lisans	86,0	79,1
<b>İlk cinsel deneyim</b>		
<18 yaş	15,1	4,7
≥18 yaş	84,9	95,3
<b>Prezervatif kullanma</b>		
Evet	58,1	58,1
Hayır	41,9	41,9
<b>Çok eşli cinsellik</b>		
Evet	10,5	0
Hayır	89,5	0

Çalışmaya dâhil edilen erkek hastalardan alınan idrar örnekleri ile bu hastaların eşlerinden alınan vajinal sürüntü örnekleri mikroskopik inceleme, kültür, PCR ve gerçek zamanlı PCR yöntemleri kullanılarak analiz edilmiştir. Bu laboratuvar yöntemlerinin duyarlılık, özgüllük, pozitif ve negatif prediktif değerleri mikroskopik inceleme altın standart alınarak hesaplanmıştır.

Mikroskopik inceleme ile klinik örneklerin %14,0 (12/86)'ünün pozitif, kültür yöntemi ile klinik örneklerin %11,6 (10/86)'sının pozitif, PCR yöntemi ile klinik örneklerin %15,1 (13/86)'inin pozitif, gerçek zamanlı PCR yöntemi ile klinik örneklerin %17,4 (15/86)'ünün pozitif olduğu bulunmuştur.

Çalışmada kullanılan mikroskopik inceleme yöntemi altın standart tanı yöntemi olarak kabul edilmiş olup, kültür yönteminin duyarlılığı %90,1; PCR yönteminin duyarlılığı %99,2 ve gerçek zamanlı PCR yönteminin duyarlılığı ise %100 olarak saptanmıştır. Bu yöntemlerin duyarlılık ve özgüllükleri birbirleriyle karşılaştırıldıklarında gerçek zamanlı PCR yönteminin diğer yöntemlere göre daha duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada kullanılan laboratuvar tanı yöntemlerinin duyarlılık, özgüllük, pozitif ve negatif prediktif değerleri tablo 3'de gösterilmiştir.

**Tablo III:** Trikomoniyaz tanısında kullanılan laboratuvar yöntemlerinin pozitif ve negatif prediktif değerleri ve duyarlılık-özgüllük değerleri; mikroskopik inceleme altın standart alınmıştır

Yöntem	%PP	%NP	Duyarlılık	Özgüllük
Kültür	11,6	88,4	90,1	81,3
PCR	15,1	84,9	99,2	91,8
Gerçek Zamanlı PCR	17,4	83,7	100	93,2

PP: Pozitif prediktif; NP: Negatif prediktif

miRNA analiz sonunda elde edilen Ct değerleri cihazın bilgisayar programı kullanılarak 2-ΔΔCt yöntemiyle hesaplanmıştır. Çalışmadaki kontrol grubu ile Trikomoniyaz hastalarındaki T ve B hücrelerini aktive eden miRNA'ların analiz sonuçları karşılaştırılmıştır. Trikomoniyaz hastalarında 60 adet miRNA'nın 20'sinin kontrol grubundakilerin miRNA ekspresyon seviyelerinden daha düşük olduğu, 11'inin ise daha yüksek olduğu ve 29'unun ise kontrol grubundakiler ile aynı seviyede olduğu görülmüştür. Trikomoniyaz hastalarında daha düşük ekspresyonlarda ya da daha yüksek ekspresyonlarda tespit edilen miRNA'lar hastalarda oluşan immün yanıtı belirlemektedir. Trikomoniyaz hastalarında tespit edilen miRNA profili ve değişiklikleri tablo 4 (düşük ekspresyon

seviyesi olan miRNA'lar) ve tablo 5'de (yüksek ekspresyon seviyesi olan miRNA'lar) gösterilmiştir.

**Tablo IV:** Çalışmadaki Trikomoniyaz hastalarında tespit edilen kontrol grubuna göre daha düşük seviyelerde eksprese olan T ve B hücrelerini aktive eden miRNA'ların sayısal değerleri

miRNAs (aşağı regüle olanlar)	HG'larının Değeri		KG'larının Değeri		ΔCt
	Mean	SD	Mean	SD	
let-7a-5p	1.36	1.28	2.62	1.92	
let-7e-5p	1.80	1.73	2.70	1.72	
miR-15a-5p	100	1.25	1.22	1.17	
miR-15b-5p	2.50	2.76	5.42	2.53	
miR-16-5p	9.12	10.65	16.69	6.38	
miR-17-5p	2.72	2.57	5.71	3.36	
miR-23a-3p	7.30	7.52	11.41	7.36	
miR-24-3p	2.83	2.49	3.56	2.60	
miR-25-3p	11.26	12.18	13.21	10.13	
miR-26b-5p	2.80	3.81	4.51	3.78	
miR-27a-3p	2.64	2.70	3.55	2.41	
miR-29a-3p	1.90	1.60	2.81	1.73	
miR-29b-3p	0.72	0.38	1.63	1.36	
miR-29c-3p	2.00	1.67	3.23	2.60	
miR-98-5p	1.32	1.34	2.01	1.83	
miR-101-3p	1.51	1.42	1.82	1.03	
miR-106b-5p	2.18	2.15	3.15	2.05	
miR-145-5p	2.46	1.30	1.36	0.31	
miR-146-5p	2.34	1.87	2.63	2.07	
miR-195-5p	3.28	2.21	4.28	1.30	

HG: Hasta grubu; KG: Kontrol grubu; Mean: Ortalama, SD: Standart sapma

**Tablo V:** Çalışmada Trikomoniyaz hastalarında tespit edilen kontrol grubuna göre daha yüksek seviyelerde eksprese olan T ve B hücrelerini aktive eden miRNA'ların sayısal değerleri

miRNAs (yukarı regüle olanlar)	HG'larının ΔCt Değeri		KG'larının ΔCt Değeri		ΔCt
	Mean	SD	Mean	SD	
miR-30b-5p	2.15	1.88	1.23	0.68	
miR-30d-5p	1.67	1.59	1.14	0.52	
miR-30e-5p	2.75	1.61	1.86	0.98	
miR-125b-5p	1.68	1.62	1.56	0.45	
miR-139-5p	2.42	1.26	1.85	1.23	
miR-142-5p	1.73	1.52	1.56	1.02	
miR-181a-5p	1.86	0.53	1.61	0.96	
miR-181d	2.63	1.47	1.92	1.20	
miR-214-3p	1.40	1.34	1.28	0.69	
miR-148a-3p	2.35	1.32	1.35	1.26	
miR-223-3p	1.69	1.21	1.06	0.38	

HG: Hasta grubu; KG: Kontrol grubu; Mean: Ortalama, SD: Standart sapma

## TARTIŞMA

Trikomoniyaz dünya genelinde yaygın olarak görülen Cinsel Yolla Bulaşan Hastalıklardan (CYBH) biri olup, hastalığın klinik tanısı ürogenital sistemde görülen diğer enfeksiyonlar ile karışabilmektedir<sup>10,11</sup>. Bu nedenle hastalığın klinik tanısının doğrulanması için laboratuvar tanı yöntemlerine ihtiyaç duyulmaktadır. Trikomoniyazın laboratuvar tanısında mikroskopik inceleme, kültür, PCR ve gerçek zamanlı PCR yöntemleri kullanılabilir. Bu laboratuvar tanı yöntemlerinin duyarlılıkları ve özgüllükleri farklı zamanlarda farklı coğrafik bölgelerde araştırılmıştır. Tamer ve ark. trikomoniyaz tanısında mikroskopik inceleme ve kültür yöntemlerini karşılaştırmışlar, kültür yönteminin daha duyarlı olduğunu rapor etmişlerdir<sup>11</sup>. Yazar ve ark. mikroskopik inceleme ve cysteine-peptone-liver maltose (CPLM) besiyerlerini kullanarak kadınlarda *T. vaginalis* parazitinin yaygınlığını araştırmışlar, klinik örneklerde CPLM besiyeri ile daha fazla pozitiflik olduğunu saptamışlardır<sup>12</sup>. Akısu ve ark. vajinal sürüntü örneklerini mikroskopik inceleme ve kültür yöntemleri ile incelemişler, mikroskopik incelemenin trikomoniyaz tanısında daha duyarlı olduğunu bildirmişlerdir<sup>13</sup>. Mikroskopik inceleme ve kültür yöntemleri düşük maliyeti nedeniyle rutin tanı yöntemi olarak birçok laboratuvar da kullanılmaktadır. Ancak son yıllarda teknolojinin gelişmesiyle beraber, yüksek duyarlılığı olan ve kısa sürede sonuç alma avantajı olan moleküler yöntemler de trikomoniyaz tanısında kullanılmaktadır. Caliendo ve ark. trikomoniyaz tanısında kullanılan kültür, PCR ve gerçek zamanlı PCR yöntemlerini karşılaştırmışlar, çalışmada elde ettikleri sonuçları student's t testi ile analiz etmişlerdir. Gerçek zamanlı PCR'in diğer laboratuvar tanı yöntemlerine göre daha duyarlı olduğunu ve bu yöntemin duyarlılığının %100 olduğunu bildirmişlerdir<sup>14</sup>.

Schirm ve ark. T. vaginalis tanısı için mikroskopik inceleme, kültür, PCR ve gerçek zamanlı PCR yöntemlerinin tanıdaki duyarlılıklarını karşılaştırmışlar, trikomoniyaz tanısında gerçek zamanlı PCR'in daha duyarlı olduğunu saptamışlardır<sup>15</sup>. Çalışmamızda trikomoniyaz tanısında mikroskopik inceleme altın standart yöntem olarak kabul edilmiş, kültür, PCR ve gerçek zamanlı PCR yöntemlerinin duyarlılıkları karşılaştırılmıştır. Çalışma sonunda gerçek zamanlı PCR yönteminin diğer tanı yöntemlerinden daha duyarlı olduğu saptanmış olup, sonuçlarımız daha önceki benzer çalışmaları desteklemektedir.

Bu çalışmada sosyo-demografik özelliklerin ve çok eşliliğin trikomoniyaz yayılmasına etkisi araştırılmıştır. Çalışma sonunda sosyo-demografik özelliklerin hastalığın yayılmasına etkili olmadığı anlaşılırken, çok eşliliğin hastalığın yaygınlığında etkili olduğu saptanmıştır. Çalışmada son on iki ay içerisinde çok eşli olduklarını bildiren erkek hastaların, iş seyahati ve tatil gibi nedenlerle yurt dışına çıktıkları, buralarda prezervatifsiz cinsel ilişkiye girmeleri sonunda trikomoniyaz hastalığına yakalanıp enfeksiyonda taşıyıcı rolünde ülkelerine geri döndükleri tespit edilmiştir. Bu hastaların eşleri olan kadın hastalarda trikomoniyaz enfeksiyonuna neden olabilecek herhangi bir bulgu (naylon iç çamaşırı kullanma, çok eşlilik) olmamasına rağmen bu hastalığa yakalanmış olmaları, eşlerinin taşıyıcı rolünde olduğunu göstermektedir. Güvensiz ve çok eşli cinsel ilişkilerin ülkemizde yaygınlaşması sonucunda, trikomoniyaz hastalığının görülme sıklığında da artış olmuştur.

Trikomoniyazın erkek hastalar ile bulaşabileceği ve bu hastalarda enfeksiyonun asemptomatik olarak görülebileceği üroloji polikliniklerinde göz ardı edilmemesi gerektiği çeşitli çalışmalarda belirtilmiştir. Guenther ve arkadaşları trikomoniyazlı erkek hastaların

%75'inden fazlasının asemptomatik olduğunu ve tedavi görmediğini, bunun da kronik enfelmasyona neden olabileceğini rapor etmişlerdir<sup>16</sup>. Lee ve ark. kronik prostatit ve üretritli erkek hastalarda yüksek oranda trikomoniyaz enfeksiyonu saptamışlardır<sup>17</sup>. Mittegger ve ark. prostat enfeksiyonlarının dokularında %34 oranında T. vaginalis paraziti tespit etmişlerdir<sup>18</sup>. Gratrix ve ark. Kanada'da cinsel yolla bulaşan enfeksiyon kliniğine başvuran kadınlarda klamidya enfeksiyonundan (%5,8) sonra en fazla (%2,8) trikomoniyaz enfeksiyonun görüldüğünü ancak bu enfeksiyonun diğer CYBH'ler arasında göz ardı edildiğini bildirmişlerdir<sup>19</sup>. Aynı çalışmada araştırmacılar erkek hastaların daha az CYBH'e yakalandıklarını (%0,2) da belirtmişlerdir. Ancak bizim çalışmamızda trikomoniyaz tespit edilen kadın hastaların eşlerinde de aynı oranda trikomoniyaz tespit edilmiş olmasıyla beraber erkek hastalarda enfeksiyonun daha çok asemptomatik olarak görüldüğü saptanmıştır.

Gen ekspresyonunu düzenleyen küçük kodlayıcı olmayan miRNA'ların parazitlerin gelişimi ve fizyolojisinde rol oynadığı gibi miRNA yolaklarının paraziter hastalıkların teşhis ve tedavisinde de etkili olduğu bilinmektedir<sup>20</sup>. Trikomoniyazlı hastalarda, hastalığın etkeni olan T. vaginalis parazite özgü oluşan antikorların ve T hücresi aracılı immun yanıt profili, parazitin ortadan kaldırılmasına veya enfeksiyonun patolojik reaksiyonlarını etkilemede rol oynamaktadır. Ayrıca, B hücrelerinin hücre dışı enfeksiyöz ajanlara karşı konak savunmasında etkili olduğu bilinmektedir<sup>21</sup>.

Trikomoniyazlı hastalarda oluşan immun yanıtlar ile ilgili farklı zamanlarda farklı bölgelerde çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalarda genel olarak Th1, Th17 ve Th22 hücresi ile ilişkili sitokinlerin koruyucu veya patojenik olabileceğini, Th2 ve Treg hücresi ile ilişkili sitokinlerin ise trikomoniyazlı hastalarda anti-inflamatuar etkiler gösterebileceği

bildirilmiştir<sup>21</sup>. Xu ve ark. *Trichomonas* cinsinden olan *Trichomonas gallinae* türündeki miRNA profilini araştırmışlar ve bu türde üç yeni miRNA (Tga-miR-1, Tga-miR-2, Tga-miR-3) tespit etmişlerdir<sup>22</sup>. Lin ve ark. *T. vaginalis*'in miRNA profilini belirlemek için yapmış oldukları çalışmada bu parazitin miRNA'larının olduğunu ve bu parazite özgü dokuz farklı miRNA olabileceğini rapor etmişlerdir<sup>4</sup>. Huang ve ark. kamçılı parazitlerde miRNA profillerini araştırmışlar ve *T. vaginalis*'de bilinen miRNA'ların dışında farklı miRNA'ların olduğunu belirtmişlerdir<sup>23</sup>. Trikomoniyaz hastalarında oluşan T ve B hücrelerin etkin rol oynadığı immün yanıt sistemi ile ilgili yapılan çalışmalarda, Th-1, Th17 ve Th22 hücrelerine bağlı sitokinlerin koruyucu veya patojenik olabileceği, Th2 ve Treg hücrelerine bağlı sitokinlerin ise hastalık sırasında anti-inflamatuar etkiler gösterebileceği gösterilmiştir. Bu çalışmalarda hastalık etkeni olan *T. vaginalis* parazitin T ve B hücre aktivasyonunu bozabildiği de bildirilmiştir<sup>24</sup>. Çalışmamızda da trikomoniyaz hastalarında T ve B hücre aktivasyonlarının bozuldukları bu hücreleri aktive eden miRNA ekspresyon seviyelerinin düşmesi veya yükselmesi ile değerlendirilmiştir.

CYBH hastalıklarının yaygınlıklarının kötü kişisel hijyen ve çoklu cinsel ilişkiye bağlı olarak değişiklik gösterdiği bilinmektedir. CYBH hastalıklarından olan trikomoniyaz özellikle adölesanlarda görülmeye devam eden halk sağlığı için tehlike oluşturan hastalıklar arasında yer almaktadır<sup>25</sup>. Ülke ekonomisi ve hastaların erken tedavisi için bu hastalığın hızlı tanısı önemlidir ki, bizim çalışmamızda bu enfeksiyonu en hızlı ve en duyarlı tanı yönteminin gerçek zamanlı PCR olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte çalışma sonuçlarımızın daha fazla örnek içeren ve farklı bölgelerde yapılacak ileriki çalışmalar ile desteklenmesi faydalı olacaktır. Çalışma sonuçlarımız trikomoniyazda sağlık personeli

ve halk arasında sadece kadınlarda görüldüğüne dair inançlar olmasına rağmen bu enfeksiyon kadınlarda olduğu kadar erkeklerde de görüldüğünü göstermektedir. Ancak erkeklerde çoğunlukla asemptomatik görüldüğünü ve bu enfeksiyonun prezervatifsiz cinsellik ilişki ve çoklu eşlilik nedeniyle artabileceğini göstermektedir.

**Etik Kurul Onayı:** Bu çalışma Necmettin Erbakan Üniversitesi, İlaç ve Tıbbi Cihaz Dışı Araştırmalar Etik Kurul Onayı (Karar No: 2020/2965-122) alınarak gerçekleştirildi.

**Çıkar Çatışması:** Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

**Finansman:** Çalışma için herhangi bir kurumdan finansal destek alınmamıştır.

**Conflict of Interest:** No conflict of interest was declared by the authors.

**Financial Disclosure:** No financial support was received from any institution for the study.

## KAYNAKLAR

1. Noh CS, Kim SS, Park SY, et al. Comparison of two PCR assays for *Trichomonas vaginalis*. *Korean J Parasitol* 2019;57(1):27-31. <https://doi.org/10.3347/kjp.2019.57.1.27>
2. <https://www.seyahatsagligi.gov.tr/SeyahatOnerileri/CinselHastaliklar> (Erişim Tarihi: 01.04.2023)
3. Nemati Malla N, Yadav M, Khorramdelazad H, Jafarzadeh A. Humoral and T cell-mediated immune response against trichomoniasis. *Parasite Immunol* 2018; 40(3). <https://doi.org/10.1111/pim.12510>.
4. Lin WC, Li SC, Lin WC, et al. Identification of microRNA in the protist *Trichomonas vaginalis*. *Genomics* 2009;93(5):487-93. <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2009.01.004>.
5. Wahid F, Shehzad A, Khan T, Kim YY. MicroRNAs: synthesis, mechanism, function, and recent clinical trials. *Biochim Biophys Acta* 2010; 1803(11):1231-43.
6. Ertabaklar H, Yaman Karadam S, Malatyali E, Ertuğ S. Investigation of in vitro metronidazole resistance in the clinical isolates of *Trichomonas vaginalis*. *Mikrobiyol Bul* 2016; 50(4):552-58. <https://doi.org/10.5578/mb.30140>.



7. Yazısız H, Koyuncu Özyurt Ö, Öztürk Eryiğit F, et al. Evaluation of microscopic examination, culture and polymerase chain reaction tests in the diagnosis of *Trichomonas vaginalis* infection. *Mikrobiyol Bul* 2020;54(1):135-143. <https://doi.org/10.5578/mb.68828>.
8. Ertabakar H, Ertuğ S, Çalışkan SÖ, Malatyalı E, Bozdoğan B. Use of internal transcribed spacer sequence polymorphisms as a method for *Trichomonas vaginalis* genotyping. *Turkiye Parazitol Derg* 2018;42(1):6-10. <https://doi.org/10.5152/tpd.2018.5503>.
9. Shaw MK, Porterfield HS, Favaloro S, et al. Prevalence and cervical organism burden among Louisiana women with *Trichomonas vaginalis* infections. *PlosOne* 2019 14(6):e027041. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.021041>.
10. Nolan MS, Cruz AT, Erickson T. Retrospective chart analysis of child and adolescent *Trichomonas vaginalis* infection in Houston, Texas. *J Pediatric Infect Dis Soc* 2020; 28;9(1):75-81. <https://doi.org/10.1093/jpids/piy134>.
11. Tamer Sönmez G, Dünder D, Çalışkan Ş, Doğer E. Comparison of direct microscopy and in-vitro cultures in detection of *Trichomonas vaginalis*. *Turk Hij Den Biyol Derg* 2008; 65(2):75-80.
12. Yazar S, Dağcı H, Aksoy Ü, et al. İzmir’de vaginal akıntılı kadınlarda *Trichomonas vaginalis* sıklığı. *İnönü Üniv Tıp Fak Derg* 2002; 9(3):159-61.
13. Akısu Ç, Aksoy Ü, Özkoç S, Orhan V. *Trichomonas vaginalis*’in tanısında direkt mikroskopik bakı, in vitro kültür, hücre kültürünün araştırılması. *Turkiye Parazitol Derg* 2002; 26(4):377-80.
14. Caliendo AM, Jordan JA, Green AM, et al. Real-time PCR improves detection of *Trichomonas vaginalis* infection compared with culture using self-collected vaginal swabs. *Infect Dis Obstet Gynecol* 2005;13(3):145-50. <https://doi.org/10.1080/10647440500068248>.
15. Schirm J, Bos PA, Roozeboom-Roelfsema IK, Lujit DS, Möller LV. *Trichomonas vaginalis* detection using real-time Taqman PCR. *J Microbiol Methods* 2007;68(2):243-7. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2006.08.002>.
16. Guenther PC, Secor WE, Dezzutti CS. *Trichomonas vaginalis* induced epithelial monolayer disruption and human immunodeficiency virus type1 (HIV-1) replication: implications for the sexual transmission of HIV-1. *Infect Immun* 2005;73:4155-60. <https://doi.org/10.1128/IAI.73.7.4155-4160.2005>.
17. Lee JJ, Moon HS, Lee TY, et al. PCR for diagnosis of male *Trichomonas vaginalis* infection with chronic prostatitis and urethritis. *Korean J Parasitol* 2012;50:157-59. <https://doi.org/10.3347/kjp.2012.50.2.17>.
18. Mitteregger D, Aberle SW, Makristathis A, et al. High detection rate of *Trichomonas vaginalis* in benign hyperplastic prostatic tissue. *Med Microbiol Immunol* 2012;201(1):113-6. <https://doi.org/10.1007/s0430-011-0205-2>.
19. Gratrix J, Plitt S, Turnbull L, Smyczek P, Brandley Scarrott R. *Trichomonas vaginalis* prevalence and correlates in women and men attending STI clinics in western Canada. *Sex Transm Dis* 2017;44(10):627-29. <https://doi.org/10.1097/OLQ.0000000000000650>.
20. Ulusan Bağcı Ö, Caner A. The role of microRNAs in parasitology. *Turkiye Parazitol Derg* 2020;44(2):102-8. <https://doi.org/10.4274/tpd.galenos.020.6776>.
21. Nemati M, Malla N, Yadav M, Khorramdelazad H, Jafarzadeh A. Humoral and T cell mediated immune response against trichomoniasis. *Parasite Immunol* 2018; 40(3). <https://doi.org/10.1111/PiM.12510>.
22. Xu MJ, Qiu SB, Nisbet AJ, et al. Global characterization of microRNAs in *Trichomonas gallinae*. *Parasit Vectors* 2014;10:7-9. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-99>.
23. Huang PJ, Lin WC, Chen SC, et al. Identification of putative miRNAs from the deepbranching unicellular flagellates. *Genomics* 2012; 99(2):101-7. <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2011.11.002>.
24. Nemati M, Malla N, Yadav M, et al. Humoral and T cell-mediated immune response against trichomoniasis. *Parasite Immunol* 2018;40(3). doi: 10.1111/pim.12510.
25. Doğan S, Altındağ E. Cinsel yolla bulaşan hastalıklar konusunda danışmanlık vermek. *Klinik Tıp Aile Hekimliği Dergisi* 2017; 9(2):33-6.