

VAJİNAL AKINTI ÖRNEKLERİNDE *TRICHOMONAS VAGINALIS* ARAŞTIRMASINDA DİREK MİKROSKOPİK İNCELEME, AKRIDİN ORANJ BOYAMA VE KÜLTÜR YÖNTEMLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ*

EVALUATION OF DIRECT MICROSCOPIC EXAMINATION, ACRIDINE ORANGE STAINING AND CULTURE METHODS FOR THE DETECTION OF *TRICHOMONAS VAGINALIS* IN VAGINAL DISCHARGE SPECIMENS

Nural CEVAHİR, İlknur KALELİ**, Babür KALELİ*****

ÖZET: *Trichomonas vaginalis*, özellikle kadınlarda görülen, cinsel yolla bulaşan ve asemptomatik kalabileceği gibi vajinit ve serviste de neden olabilen bir protozondur. Bu çalışmada vajinal akıntısı olan 17-45 yaş arasındaki 310 kadından alınan vajinal örneklerde *T.vaginalis* sıklığının belirlenmesinde direk mikroskopik inceleme, akridin oranj ile boyalı inceleme ve Modifiye Diamond besiyerinde kültür yöntemlerinin karşılaştırılması amaçlanmıştır. Örneklerin 40'ında (%12.9) kültür, 20'sinde (%6.5) direk mikroskopi ve 19'unda (%6.1) boyalı inceleme yöntemiyle *T.vaginalis* tespit edilmiştir. Her üç metotla 17 olguda pozitiflik saptanırken, direk mikroskopi ve kültür ile 3 olguda, boyalı inceleme ve kültür ile 2 olguda ve sadece kültür ile 18 olguda pozitiflik belirlenmiştir. Akıntıya ek olarak kaşıntısı olan 41 hastanın %19.5'inde, kasık ağrısı olan 190 hastanın %15.7'sinde ve servikal erozyonu olan 43 hastanın %23.2'sinde en az bir yöntemle *T.vaginalis* varlığı saptanmıştır. Yapılan değerlendirmede, *T.vaginalis* pozitifliğinin yaş gruplarına ve kullanılan doğum kontrol yöntemlerine göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermediği belirlenmiştir. Sonuç olarak, *T.vaginalis*'in laboratuvar tanısında akridin oranj boyamanın direk mikroskopiye bir üstünlüğünün olmadığı, direk mikroskopinin kolay uygulanabilir ve ucuz bir yöntem olmasına rağmen duyarlılığın düşük olduğu ve bu yöntemle negatif bulunan şüpheli örneklerin de kültürünün yapılmasının uygun olacağı kanısına varılmıştır.

Anahtar kelimeler: *Trichomonas vaginalis*, direk mikroskopi, akridin oranj, Modifiye Diamond besiyeri.

SUMMARY: *Trichomonas vaginalis* is the causative agent of human trichomoniasis which is a sexually transmitted disease mainly in women. The infection may be asymptomatic or symptomatic such as severe vaginitis and cervicitis. The aim of this study was to compare direct microscopic examination,

* X. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi'nde poster olarak sunulmuştur.

** Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Denizli.

*** Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Denizli.

acridine orange stained examination and culture in Modified Diamond medium, for the detection of *T.vaginalis* from the vaginal swab samples of 310 patients (age ranges: 17-45 years old) who were complaining from vaginal discharge. Of them 40 (12.9%) samples were found positive with culture, 20 (6.5%) were positive with direct microscopy and 19 (6.1%) were positive with acridine orange staining method. The positive results were obtained in 17 cases by each of the three methods, in 3 cases by direct microscopy and culture, in 2 cases by acridine orange staining and culture, and in 18 cases by culture only. *T.vaginalis* has been detected in 19.5% of 41 patients with itching, 15.7% of 190 patient with groin pain and 23.2% of 43 patients with cervical erosion, in addition to vaginal discharge, by at least one of the methods. In conditional evaluation, there were no statistically significant differences between *T.vaginalis* positivity with age groups and the contraceptive methods used. As a result, it was concluded that for the laboratory diagnosis of *T.vaginalis*, acridine orange staining technique does not have any superiority over direct microscopy. Although direct microscopy is a practical and economical method, it has low sensitivity, so all of the suspected samples which are found negative by this method, should be cultivated for a definite diagnosis.

Key words: Trichomonas vaginalis, direct microscopy, acridine orange, Modified Diamond medium.

GİRİŞ

Trichomonas vaginalis, tüm dünyada yaygın olarak bulunan, cinsel yolla bulaşan, hareketli bir protozoondur. Kadınlarda vajinit, servisit ve üretrite, erkeklerde ise üretrit ve prostatite neden olmaktadır¹. *T.vaginalis* enfeksiyonlarına seksüel aktivitenin en fazla olduğu 16-35 yaş grubunda sık rastlanılmaktadır². Her iki cinste de ortaya çıkan hastalık, kadınlarda semptomatik veya asemptomatik olabildiği halde, erkeklerde daha çok asemptomatiktir³⁻⁵. Yaşam koşulları, kişisel hijyen, cinsel serbestlik gibi faktörler parazitin yayılışını etkilemektedir².

Trichomonas vajinitinde vulva ve vajende kaşıntı, yapışkan, sarı-yeşil ve pis kokulu akıntı ve disüri en belirgin klinik bulgularıdır^{1,6}. Tanıda direkt mikroskopik inceleme, kültür ve çeşitli boyama yöntemleri kullanılmaktadır. Ayrıca indirek tanı yöntemlerinden de yararlanılmaktadır^{7,8}.

Bu çalışmada vajinal akıntı örneklerinde *T.vaginalis* sıklığının üç ayrı yöntem kullanılarak araştırılması ve yöntemlerin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmaya, Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Polikliniğine (KHD) vajinal akıntı şikayeti ile başvuran ve yaşları 17-45 arasında değişen 310 kadın dahil edildi. Çalışmaya alınan hastalarda yaş, gebelik sayısı, kullandığı doğum kontrol yöntemi, antibiyotik alımı, kaşıntı ve kasık ağrısı olup olmadığı sorgulandı. Pelvik muayenede erozyon varlığı yönünden araştırıldı.

Hastaların vajinal akıntı örneklerinde direk mikroskopik inceleme (DMİ), akrinin oranj boyama (AO) ve Modifiye Diamond besiyeri (MDB) kullanılarak *T.vaginalis* sıklığı araştırıldı. Bu amaçla, hastalardan posterior forniksten 3 steril eküvyon ile

akıntı örneği alındı. Birinci eküvyon DMİ için serum fizyolojik içeren tüpe, ikinci eküvyon kültür için 10 ml Modifiye Diamond besiyeri içeren tüpe ve üçüncü eküvyon 1.5 ml PBS (phosphate-buffered saline, pH: 7.2) içeren tüpe konuldu. Serum fizyolojik içindeki örnek laboratuvarında lam-lamel arasında direk mikroskopi ile incelendi. PBS içindeki örnek, laboratuvarında vortekslenip içindeki eküvyon tüp kenarına bastırılıp suyu çıkarıldıktan sonra atıldı. Bu süspansiyondan 25 µl lam üzerine konulup metanol ile tespit edildi. Daha sonra akridin oranj ile boyandı ve floresans mikroskobu (Olympus model BX40) ile incelendi. Modifiye Diamond besiyeri 37°C'de 7'inci güne kadar inkübe edildi. Üreme olup olmadığı her gün direk mikroskopik inceleme ile hareketli trofozoit yönünden araştırıldı. Ayrıca hastalardan alınan bütün akıntı örneklerinin normal aerob bakteriyolojik kültürleri de yapılarak, *Trichomonas* dışındaki diğer etkenlerin varlığı da belirlendi.

Sonuçların istatistiksel değerlendirilmesinde Mc Nemar ki-kare testi ve Pearson ki-kare testi kullanıldı.

BULGULAR

Vajinal sürüntü örnekleri incelenen 310 kadın hastada, *T. vaginalis* pozitifliğinin yöntemlere göre dağılımı Tablo I'de, *T. vaginalis* pozitifliğinin kullanılan yöntemlerdeki birlikteliği Tablo II'de görülmektedir.

Tablo I: *T. vaginalis* Pozitifliğinin Yöntemlere Göre Dağılımı

| Yöntemler | <i>T. vaginalis</i> (+) | |
|----------------------|-------------------------|------|
| | n | % |
| Direk mikroskopi | 20 | 6.5 |
| Akridin oranj boyama | 19 | 6.1 |
| MDB'de kültür | 40 | 12.9 |

Tablo II: Her Üç Yöntem ile *T. vaginalis* Pozitifliğin Karşılaştırılması

| Direk Mikroskopi | Akridin Oranj Boyama | MDB'de Kültür | Olgu Sayısı |
|------------------|----------------------|---------------|-------------|
| + | + | + | 17 |
| + | - | + | 3 |
| - | + | + | 2 |
| - | - | + | 18 |
| 20 | 19 | 40 | 40 |

Kullanılan yöntemler istatistiksel olarak karşılaştırıldığında MDB'nin diğer yöntemlere göre anlamlı olarak *T. vaginalis*'i daha iyi tesbit ettiği görülmüştür ($p < 0.0001$). *T. vaginalis* tanısı için kültür altın standart olarak kabul edildiğinde, DMİ'nin duyarlılığı %50, özgüllüğü %99.2, AO boyamanın duyarlılığı %47.5, özgüllüğü ise %100 olarak bulunmuştur.

Akıntı şikayetine ek olarak, hastaların 274'ünde (%88) saptanan klinik yakınmalar arasında kaşıntı, kasık ağrısı ve servikal erozyon bulunmaktadır. Akıntısı olan 310 hastanın 40 (%12.9)'unda, kaşıntısı olan 41 hastanın 8'inde (%19.5), kasık ağrısı olan 190 hastanın 30'unda (%15.7) ve servikal erozyonu olan 43 hastanın 10'unda (%23.2) en az bir yöntemle *T. vaginalis* tespit edilmiştir.

T.vaginalis pozitifliğinin kullanılan doğum kontrol yöntemlerine göre dağılımı Tablo III'te görülmektedir. İstatistiksel olarak anlamlı bir fark olmamasına rağmen, rahim içi araç (RİA) kullanan hastalarda *Trichomonas* sıklığının yüksek olduğu gözlenmiştir ($p>0.05$).

Tablo III: Kullanılan Doğum Kontrol Yöntemine Göre *T.vaginalis* Görülme Sıklığı

| Kullanılan Yöntem | Sayı | T. vaginalis (+) | |
|---------------------------|------------|------------------|-------------|
| | | n | % |
| RİA | 164 | 26 | 15.8 |
| Prezervatif | 47 | 3 | 6.3 |
| Oral kontraseptif | 37 | 3 | 8.1 |
| Etkili yöntem kullanmayan | 62 | 8 | 12.9 |
| Toplam | 310 | 40 | 12.9 |

Olguların yaş gruplarına göre dağılımı Tablo IV'de verilmiştir. *T.vaginalis* görülme sıklığı 30-34 yaş grubunda daha yüksek olmakla birlikte yaş grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0.05$).

Hastaların aerop kültürlerinde üretilen diğer mikroorganizmaların dağılımı ise Tablo V'de görülmektedir. Bunlardan çoğunun normal flora üyesi olduğu saptanmıştır.

Tablo IV: Yaş Gruplarına Göre *T.vaginalis* Görülme Sıklığı

| Yaş Grubu | Sayı | T.vaginalis | |
|---------------|------------|-------------|-------------|
| | | n | % |
| 17-24 yıl | 58 | 6 | 10.3 |
| 25-29 yıl | 63 | 8 | 12.6 |
| 30-34 yıl | 83 | 15 | 18.0 |
| 35-39 yıl | 57 | 6 | 10.5 |
| 40-45 yıl | 49 | 5 | 10.2 |
| Toplam | 310 | 40 | 12.9 |

Tablo V: *T.vaginalis* Dışında Hastalarda Saptanan Mikroorganizmalar*

| Mikroorganizma | n | % |
|------------------------------|-----|------|
| <i>Lactobacillus</i> spp. | 176 | 56.7 |
| <i>Corynebacterium</i> spp. | 93 | 30.0 |
| <i>Candida</i> spp. | 92 | 29.6 |
| <i>Staphylococcus</i> spp. | 50 | 16.1 |
| <i>Gardnerella vaginalis</i> | 33 | 10.6 |
| <i>Streptococcus</i> spp. | 22 | 7.1 |
| <i>E.coli</i> | 17 | 5.5 |

* Kişilerin çoğunda birden fazla mikroorganizma ürediği için kolon toplam ve yüzdeleri alınmamıştır.

TARTIŞMA

T.vaginalis, viral patojenler dışında seksüel yolla bulaşan etkenler arasında en sık görülen mikroorganizmalardandır. Enfeksiyonun asemptomatik seyrettiği enfekte kadın ve erkekler bulaşmanın en önemli kaynağıdır. Semptomatik enfeksiyonda ise, kadınlarda vajinit, servisit ve üretrit, erkeklerde üretrit ve prostatit bulguları ortaya çıkmaktadır.

T.vaginalis tanısı için dikkatli bir laboratuvar incelemesi esastır. Tanıda direk mikroskopik incelemeye (DMİ) alternatif bir test kesin olarak önerilmemiştir. Bu yöntem, taze alınmış vajinal veya üretral akıntı örneğinin direk lam-lamel arası incelenmesi nedeniyle kolay uygulama özelliğine sahiptir. Parazit tipik hücre şekli ve hareketi ile tanınır. Çok özgül bir yöntem olan DMİ'nin duyarlılığı %49-80 arasında değişmektedir^{1,7,8}. Yöntemin kullanımını sınırlayan faktörler arasında; örneğin çok kısa süre içinde incelenme gereksinimi, parazitin çevre şartlarına bağlı olarak çeşitli yapılarda görülebilmesi, soğuk ortamda bekletildiğinde hareketini kaybetmesi ve değerlendirmenin deneyimli elemanlar tarafından dikkatlice yapılması gereği sayılabilir^{3,7}. Kültür, *T.vaginalis* tanısında duyarlılığı çok yüksek ve "altın standart" olarak kabul edilen bir yöntemdir^{3,9}. Kültürde kullanılan besiyerlerinden biri olan Modifiye Diamond besiyeri (MDB) çok az sayıda organizma olduğunda bile *T.vaginalis*'i belirleyebilmektedir. Ancak kültür zaman alıcı ve pahalı bir yöntemdir^{1,3}. Tanıda kullanılan Giemsa, Gram ve akridin oranj (AO) gibi çeşitli boyama yöntemlerinin duyarlılıkları da düşüktür. AO ile boyamada yüksek konsantrasyonda bakteri varlığında tanımlamada zorluk olacağı ve çeşitli yapılarla karışabileceği bildirilmektedir³. Bickley ve arkadaşları³ *T.vaginalis* tanısında direk floresan antikor (DFA), AO boyama, DMİ ve kültür yöntemlerini karşılaştırmışlar, DMİ ve/veya kültür ile 104 kadının 38'inde (%37) *Trichomonas* tespit etmişler ve *T.vaginalis* bulunan 38 hastanın %95'ini kültür ile, %83'ünü DFA ile, %66'sını AO ve %66'sını DMİ ile belirlemişlerdir. Bu sonuçlara göre DFA'yı, AO ve DMİ'ye göre daha duyarlı (duyarlılık sırasıyla %96, %67, %53) saptamışlar ve kültüre alternatif olabileceğini rapor etmişlerdir³.

Greenwood ve arkadaşları¹⁰ ise yaptıkları çalışmada, vajinal örneklerde *T.vaginalis*'in araştırılmasında AO ile DMİ'nin duyarlılık ve özgüllüklerinin benzer olduğunu belirtmişlerdir. Hipp ve arkadaşları¹¹ vajinal örneklerde *T.vaginalis*'in belirlenmesinde AO boyama ile DMİ'yi karşılaştırmışlar, tüm pozitif örneklerin %96'sını AO ile belirlerken, DMİ ile yalnızca %76'sını tespit etmişlerdir. Pillay ve arkadaşları⁴ üretral akıntı örneklerinde *T.vaginalis*'i kültür, DMİ, AO ve RapiDiff boyama yöntemleriyle araştırmışlar ve kültür pozitif 42 (%18.5) hastanın 18'inde DMİ ile, 34'ünde AO boyama ile ve 41'inde RapiDiff boyama ile pozitif sonuç elde ederek, boyama yöntemlerinin DMİ'ye alternatif olabileceğini belirtmişlerdir. Van Der Schee ve arkadaşlarının⁵ çalışmasında, kültür, AO, DMİ ve polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) kullanılarak *T.vaginalis* araştırılmış ve 804 kadının 70'inde bir veya daha fazla testle pozitiflik saptanmıştır. DMİ ile 31 (%3.8), AO ile 36 (%4.4), MDB ile 40 (%4.9), Trichosel besiyerinde kültür ile 46 (%5.7), PZR ile 61 (%7.5) örnekte pozitiflik belirleyen araştırmacılar, tüm yöntemlerle sadece 22 (%2.6) örneğin pozitif olarak sonuç verdiğinin ifade etmişlerdir⁵. Schwebke ve arkadaşları¹² da, DMİ'nin duyarlılığının kültüre göre düşük olduğunu ve DMİ ile negatif bulunan örneklerin kültürünün yapılmasının uygun olacağını bildirmişlerdir.

Bizim çalışmamızda, vajinal akıntı örneklerinde *T.vaginalis* araştırılmasında DMİ, AO ve MDB yöntemleri kullanılmış ve 310 hastanın 20'sinde (%6.5) DMİ ile, 19'unda (%6.1) AO boyama ile ve 40'ında (%12.9) MDB ile *T.vaginalis* varlığı tespit edilmiştir. Her üç yöntemle pozitiflik oranı %42.5 (17/40) iken, sadece kültür ile bu oran %45 (18/40)'dir. DMİ ve/veya AO ile pozitif bulunan örneklerin hepsi kültür ile de pozitif

bulunmuştur (Tablo II). DMI ile pozitif bulunan 3 örnek AO ile negatif, AO ile pozitif bulunan 2 örnek DMI ile negatif olarak saptanmış ve kültür altın standart olarak alındığında her iki yöntemin duyarlılık ve özgüllüklerinin benzer olduğu görülmüştür. *T.vaginalis* tanısında AO boyamanın DMI'ye bir üstünlüğünün olmadığı belirlenen çalışmamızın bu sonucu diğer çalışmalarla da uyumludur^{3,7,13}.

T.vaginalis, vajen epitelinde deskuamasyon ve dejenerasyona neden olur, bunu lökosit inflamasyonu izler. Akıntı, kaşıntı, vulvit, disüri sık görülen bulgulardır. Enfekte kadınların %90'ında servikal erozyon gelişmektedir. Parazit ayrıca üretral ve paraüretral bezlere yerleşerek üretrit ve disüriye neden olmaktadır^{1,2}. Bizim çalışmamızda da hastalarımızın %88'inde akıntı şikayetine kaşıntı, kasık ağrısı ve servikal erozyon eşlik etmekteydi. Akıntıya ilaveten kaşıntısı olan hastaların %19.5'inde, kasık ağrısı hastaların %15.7'sinde ve servikal erozyonu olan hastaların %23.2'sinde *T.vaginalis* pozitifliği saptanmıştır.

Doğum kontrol yöntemleri ile *T.vaginalis* enfeksiyonu arasındaki ilişkiyi inceleyen çeşitli çalışmalar yapılmıştır¹⁴⁻¹⁷. Doğum kontrol yöntemi olarak oral kontraseptif (OK) kullanan kadınlarda trichomoniasis'in daha az görülmesinin nedeni, gestasyonel hormonların vajinal florayı etkilemesi ve protozoanın o bölgeye yerleşmesini engellemesi ya da patojenite üzerine östrojenin direk etkisi olarak düşünülmektedir¹. Bramley ve Kringhorn¹⁴, OK kullananlarda trichomoniasis oranının az olduğunu, buna oranla mantar enfeksiyonlarının arttığını ve Ceruti ve arkadaşları¹³, RİA kullananlarda *T.vaginalis* ve diğer bakteriyel enfeksiyonların arttığını ifade etmektedirler. Birnbaum ve arkadaşlarının¹⁵ çalışmasında, *T.vaginalis* pozitiflik oranı RİA kullananlarda %6.6, OK kullananlarda %2.1 olarak bulunmuştur. Ülkemizde de Demirezen'in¹⁶ yaptığı çalışma ile Adiloğlu ve arkadaşlarının¹⁷ yaptıkları çalışmada, *T.vaginalis* enfeksiyonunun RİA kullanan kişilerde, kullanmayanlara göre daha sık görüldüğü belirtilmektedir. Bizim çalışmamızda da RİA kullanan kadınlarda saptanan %15.8'lik *T.vaginalis* pozitifliği, istatistiksel olarak anlamlı olmamasına rağmen, diğerlerinden daha yüksektir ($p>0.05$).

T.vaginalis doğurganlık çağındaki kadınlarda vulvovajinitin nedenlerinden biridir. Dragsted ve arkadaşları¹⁸ yaptıkları çalışmada, orta yaş kadınlarda (31-39 yaş arasında) *T.vaginalis* oranının arttığını belirtmişlerdir. Doğan ve Akgün'ün¹⁹ çalışmasında, yaş grupları arasında anlamlı bir fark bulunmamasına rağmen 26-35 yaş arasında *T.vaginalis* sıklığının daha yüksek olduğu bildirilmektedir. Bizim çalışmamızda da yaş grupları arasında anlamlı bir fark olmamasına rağmen 30-34 yaş arasında *T.vaginalis* görülme oranının (%18.0) daha fazla olduğu izlenmiştir ($p>0.05$).

Sonuç olarak, *T.vaginalis* tanısında DMI'nin kolay uygulanabilir ve ucuz bir yöntem olmasına rağmen duyarlılığı düşük olması ve AO boyamanın DMI'ye bir üstünlüğünün saptanamaması nedeniyle *T.vaginalis*'in laboratuvar tanısında DMI yanında, özellikle negatif örneklerde kültürün de yapılmasının uygun olacağı kanısındayız.

KAYNAKLAR

1. Rein MF: *Trichomonas vaginalis*, pp: 2493-2497. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (Eds), Principles and Practice of Infectious Disease. 1995, 4th ed. Churchill Livingstone, New York.
2. Özçelik S: Kamçılı protozoonlar ve yaptıkları hastalıklar, s: 1191-1207. Ustaçelebi Ş (Ed), Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. 1999, 1. baskı. Güneş Kitabevi, Ankara.

3. Bickley LS, Krisher KK, Punsalang A, et al: Comparison of direct fluorescent antibody, acridine orange, wet mount, and culture for detection of *Trichomonas vaginalis* in women attending a Public Sexually Transmitted Diseases Clinic. *Sex Transm Dis* 1989, 16: 127-131.
4. Pillay DG, Hoosen AA, Vezi B, Moodley C: Diagnosis of *Trichomonas vaginalis* In male urethritis. *Trop Geogr Med* 1994, 46: 44-45.
5. Van Der Schee C, Van Belkum A, Zwiijgers L, et al: Improved diagnosis of *Trichomonas vaginalis* infection by PCR using vaginal swabs and urine specimens compared to diagnosis by wet mount microscopy, culture, and fluorescent staining. *J Clin Microbiol* 1999, 37: 4127-4130.
6. Usluer G: Vajinal infeksiyonlar, s: 939-942. Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M (Ed). *İnfeksiyon Hastalıkları*. 1996, 1. baskı. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul.
7. Lumsden WHR, Burns S, Mc Millan A: Protozoa, pp: 721-754. In: Collee JG, Fraser AG, Marmion BP, Simmons A (Eds), *Practical Medical Microbiology*. 1996, 14th ed. Churchill Livingstone, New York.
8. Healy GR, Garcia LS: Intestinal and urogenital protozoa, pp: 1204-1228. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH (Eds), *Manual of Clinical Microbiology*. 1995, 6th ed. ASM Press, Washington DC.
9. Lawing LF, Hedges SR, Schwebke JR: Detection of Trichomoniasis in vaginal and urine specimens from women by culture and PCR. *J Clin Microbiol* 2000, 38: 3585-3588.
10. Greenwood JR, Kirk-Hillaire K: Evaluation of acridine orange stain for detection of *Trichomonas vaginalis* in vaginal specimens. *J Clin Microbiol* 1981, 14: 699.
11. Hipp SS, Kirkwood MW, Gaafar HA: Screening for *Trichomonas vaginalis* infection by use of acridine orange fluorescent microscopy. *Sex Transm Dis* 1979, 6: 235-238.
12. Schwebke JR, Venglarik MF, Morgan SC: Delayed versus immediate bedside inoculation of culture media for diagnosis of vaginal trichomoniasis. *J Clin Microbiol* 1999, 37: 2369-2370.
13. Ceruti M, Canestrelli M, Condemi V, et al: Methods of contraception and rates of genital infections. *Clin Exp Obstet Gynecol* 1994, 21: 119-123.
14. Bramley M, Kinghorn G: Do oral contraceptives inhibit *Trichomonas vaginalis*? *Sex Transm Dis* 1979, 6: 261-263.
15. Birnbaum H, Kraussold E: Incidence of the Blastomyces and Trichomonad infections during the use of hormonal and intrauterine contraception. *Zentralbl Gynakol* 1975, 97: 1636-1640.
16. Demirezen S: *Trichomonas vaginalis* in vaginal smears of women using intrauterine contraceptive device. *Cent Eur J Public Health* 2001, 9: 176-178.
17. Adiloğlu AK, Acar N: *Trichomonas vaginalis* infeksiyonunun rahim içi araç kullanımı ve servikal akıntının direkt mikroskopik inceleme bulgularıyla birlikteliği. *İnfeks Derg* 2001, 15: 513-516.
18. Dragsted DM, Farholt S, Lind I: Occurrence of trichomoniasis in women in Denmark, 1967-1997. *Sex Transm Dis* 2001, 28: 326-329.
19. Doğan N, Akgün Y: Doğum kontrol yöntemleri ile *Trichomonas vaginalis* görülme sıklığı arasındaki ilişki. *İnfeks Derg* 1999, 13: 187-190.