



T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ÜRETRİT SEMPTOMLARI OLAN ERKEK HASTALARDA
MYCOPLASMA VE *UREAPLASMA* TÜRLERİNİN
MOLEKÜLER YÖNTEMLE ARAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ

Dr. Tuncer KARPUZ

Antalya, 2023



T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**ÜRETRİT SEMPTOMLARI OLAN ERKEK HASTALARDA
MYCOPLASMA VE UREAPLASMA TÜRLERİNİN
MOLEKÜLER YÖNTEMLE ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Tuncer KARPUZ

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Hatice YAZISIZ

“Kaynak gösterilerek tezimden yararlanılabilir.”

**Bu çalışma, Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi
tarafından TTU-2022-5973 numaralı proje ile desteklenmiştir.**

Antalya, 2023

TEŞEKKÜR

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalındaki uzmanlık eğitimim boyunca mesleki bilgilerinden çok şey öğrendiğim, yanında çalışmaktan onur duyduğum ve çalışmalarımda değerli fikirleri ile bana yol gösteren, tez sürecimde yardımını esirgemeyen değerli hocam tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Hatice YAZISIZ'a

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerinden yararlanma fırsatı bulduğum, desteğini bizden esirgemeyen ve her konuda yol gösteren başta Akdeniz Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. M. Dilara ÖĞÜNÇ olmak üzere, Prof. Dr. Dilek ÇOLAK'a, Prof. Dr. Derya MUTLU'ya, Prof. Dr. Gözde ÖNGÜT'e, Prof. Dr. Mete EYİGÖR'e, Prof. Dr. Betil ÖZHAK'a, Prof. Dr. Sadi KÖKSOY'a, Prof. Dr. Esvet MUTLU'ya, Doç. Dr. Özlem KOYUNCU ÖZYURT'a

Uzmanlık eğitimim sırasında birlikte çalıştığım; yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen değerli Moleküler Testler, Bakteriyoloji ve diğer tüm Merkez Laboratuvarı çalışanlarına, örnek toplama süresince yardımlarını esirgemeyen polikliniklerdeki asistan arkadaşlarıma, diğer tüm poliklinik çalışanlarına ve Uzm. Dr. Murat ŞAMBEL'e, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalındaki asistan arkadaşlarıma, tezimdeki verilerin analizi için desteğini esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Veli YAZISIZ'a,

Hayatım boyunca bana verdikleri her türlü destek ve duydukları güven ile her zaman yanımda olan sevgili aileme, varlığı ile bana her zaman güç veren yol arkadaşım Selin'e, neşe kaynaklarım Sirius ve Sıpa'ya

Sonsuz teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vi
TABLolar DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Mikoplazmalar ve Üreaplazmalar	4
2.1.1. Genel Bilgiler	4
2.1.2. Sınıflandırılması.....	4
2.1.3. Mikrobiyolojik Özellikleri	5
2.1.4. Antijenik Özellikleri.....	7
2.1.5. Epidemiyolojisi	8
2.1.6. Klinik	9
2.1.7. Mikoplazmaların Laboratuvar Tanısı.....	10
2.2. <i>Neisseria gonorrhoeae</i>	15
2.2.1. Genel Bilgiler	15
2.2.2. Sınıflandırılması.....	15
2.2.3. Mikrobiyolojik Özellikleri	15
2.2.4. Antijenik Özellikleri.....	16
2.2.5. Epidemiyolojisi	18
2.2.6. Klinik	19

2.2.7. <i>Neisseria gonorrhoeae</i> 'nin Laboratuvar Tanısı	19
2.3. <i>Trichomonas vaginalis</i>	22
2.3.1. Genel Bilgiler	22
2.3.2. Sınıflandırılması	22
2.3.3. Mikrobiyolojik Özellikleri	23
2.3.4. Antijenik Özellikleri	23
2.3.5. Epidemiyolojisi	24
2.3.6. Klinik	25
2.3.7. <i>Trichomonas vaginalis</i> 'in Laboratuvar Tanısı	25
3. GEREÇ VE YÖNTEM	28
3.1. Gereçler ve Ekipman	28
3.2. Yöntem	29
3.2.1. Üretrit Semptomları Olan Hastaların Seçilmesi	29
3.2.2. Hastalardan İdrar Örneği Alınması	31
3.2.3. Hastalardan Sürüntü Örneği Alınması	31
3.2.4. İdrar Örneğinin Çalışma İçin Hazırlanması	31
3.2.5. İdrar Örneğinin Direkt Mikroskopik İncelenmesi	31
3.2.6. Sürüntü Örneğinin Çalışılması	32
3.2.7. Gram Boyama	32
3.2.8. <i>Neisseria gonorrhoeae</i> Kültürü	32
3.2.9. <i>Trichomonas vaginalis</i> Kültürü	35
3.2.10. Multipleks PZR Kiti	36
3.3. İstatistiksel Değerlendirme	38
4. BULGULAR	39

4.1. Hastaların Demografik Verileri, Cinsel Davranış Özellikleri ve Semptomları	39
4.2. Mikroskopi ve Kültür Sonuçları	41
4.3. Multipleks PZR Sonuçları.....	44
5. TARTIŞMA	52
6. SONUÇLAR	59
7. ÖZET.....	60
8. ABSTRACT	62
9. KAYNAKLAR	64

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

CYBE	Cinsel yolla bulaşan enfeksiyon
NGU	Non-gonokokal üretrit
NGNCU	Non-gonokokal, non-klamidyal üretrit
BASHH	İngiliz Cinsel Sağlık ve HIV Derneği
HIV	İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü
RNA	Ribonükleik asit
DNA	Deoksiribonükleik asit
Vaa	Variable-adherence-associated antigen
CO₂	Karbon dioksit
NH₃	Amonyak
ATP	Adenozin trifosfat
IgA	İmmünglobulin A
PID	Pelvik inflamatuvar hastalık
PZR	Polimeraz zincir reaksiyonu
NAAT	Nükleik asit amplifikasyon testi
rRNA	Ribozomal ribonükleik asit
OMP	Dış membran proteini
LOS	Lipooligosakkarit
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
PMNL	Polimorfonükleer lökosit
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
CDC	Hastalık Kontrol ve Koruma Merkezi
MALDI-TOF MS	Matrix Assisted Laser Desorption Ionization Time of Flight Mass Spectrometry

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo	Sayfa
Tablo 2.1. <i>Mollicutes</i> sınıfının sınıflandırılması	5
Tablo 3.1. Modifiye Martin-Lewis agar besiyeri içeriği.....	34
Tablo 3.2. Diamond's TYM besiyeri içeriği.....	35
Tablo 4.1. Hastaların demografik verileri, cinsel davranış özellikleri.....	40
Tablo 4.2. Hastaların semptomları	41
Tablo 4.3. Hasta örneklerinde uygulanan yöntemler ve sonuçları.....	45
Tablo 4.4. Yaş gruplarına göre saptanan mikroorganizma sayıları	50
Tablo 4.5. Hastaların cinsel davranış özellikleri ve semptomları ile mikroorganizma saptanması arasındaki ilişki	51

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
Şekil 3.1. Hasta İzlem Formu.....	30
Şekil 3.2. BD MAX™ otomatik nükleik asit ekstraksiyonu ve gerçek zamanlı PZR cihazı.....	37
Şekil 4.1. Modifiye Martin-Lewis agarda üremiş <i>N. gonorrhoeae</i> kolonileri.....	42
Şekil 4.2. Modifiye Martin-Lewis agarda üremiş <i>N. gonorrhoeae</i> kolonileri.....	43
Şekil 4.3. <i>N. gonorrhoeae</i> kolonilerinden yapılan Gram boyama (x100 objektif).....	44
Şekil 4.4. 34.-39. Hastaların PZR sonuçları.....	46
Şekil 4.5. Sonucu negatif olan bir hastanın beş optik kanalda tespit edilen floresan miktarlarının grafiği.....	47
Şekil 4.6. <i>M. genitalium</i> pozitif saptanan bir hastanın beş optik kanalda tespit edilen floresan miktarlarının grafikleri	48
Şekil 4.7. Tespit edilen mikroorganizmaların dağılımı.....	49

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Genitoüriner sistem enfeksiyonları hem sağlıklı popülasyonda hem de immün sistemi zayıf kişilerde önemli bir morbidite nedenidir. Genitoüriner sistem enfeksiyonları, üriner sistem enfeksiyonları ve genital sistem enfeksiyonları olarak ikiye ayrılabilir. Genital sistem enfeksiyonlarının çoğu cinsel yolla bulaşan etkenler tarafından oluşturulmaktadır (1).

Cinsel yolla bulaşan enfeksiyon (CYBE) terimi, bir patojenin seksüel temasla bulaşması ve enfeksiyona neden olmasını ifade etmektedir. CYBE'ler ağırlıklı olarak vajinal, anal ve oral seks dahil olmak üzere cinsel temas yoluyla yayılır. CYBE'lerin yaygın semptomları arasında vajinal akıntı, üretral akıntı veya erkeklerde idrar yaparken yanma, genital ülserler ve karın ağrısı bulunur. CYBE'ler asemptomatik olarak da seyredebilir (2). Otuzdan fazla farklı bakteri, virüs ve parazitin cinsel temas yoluyla bulaştığı bilinmektedir. Bu patojenlerin sekizi, cinsel yolla bulaşan hastalıkların en yüksek insidansa sahip olanlarıdır. Bunlardan dördü (sifiliz, gonore, klamidy ve trikomoniyaz) tedavi edilebilir cinsel yolla bulaşan enfeksiyonlar olarak tanımlanmaktadır (3).

Üretrit, üretranın inflamasyonudur. Sıklıkla bulaşıcı patojenlere bağlı olarak gelişirken, nadiren lokal tahrişlere bağlı olarak da üretrit gelişebilir. Üretritin karakteristik bulguları üretral akıntı, dizüri, ön üretrada kaşıntı ve yanmadır (4). Dizüri (idrar yaparken ağrı veya rahatsızlık hissi) genellikle üretritli erkeklerde başlıca şikayettir ve gonoreli erkeklerin çoğunda ve non-gonokokal üretritli (NGU) hastaların yarısından fazlasında rapor edilmiştir. Üretral akıntı mukoid, sulu, pürülan şeklinde değişkenlik gösterebilir. Gün boyunca olabildiği gibi yalnızca ilk sabah idrarında da gözlenebilir (5,6). Bununla birlikte, üretriti olan her erkekte semptom görülmeyebilir. Gonokokal üretrit vakalarının %5-%10'u ve NGU'lu erkeklerin %42'ye varan oranı asemptomatiktir (7,8).

Enfeksiyöz üretrit tipik olarak cinsel yolla bulaşan bir patojenden kaynaklanır; bu nedenle vakaların çoğu genç, cinsel aktif erkeklerdir. *Neisseria*

gonorrhoeae (*N. gonorrhoeae*) ve *Chlamydia trachomatis* (*C. trachomatis*) sıklıkla tanımlanan etkenlerdir. *Mycoplasma genitalium* (*M. genitalium*) da üretrit ile güçlü bir şekilde ilişkilendirilmiştir. *C. trachomatis* NGU'nun en yaygın olarak tanımlanan nedenidir ve *M. genitalium* ikinci en yaygın olanıdır ancak, tüm NGU vakalarının neredeyse yarısının tanımlanmış belirli bir etiyolojisi yoktur (9).

N. gonorrhoeae'nin üretrite neden olduğu keşfedildikten sonra, NGU adı, üretrite neden olan bilinmeyen patojenleri tanımlamak için toplu bir terim olarak kullanılmaya başlanmıştır. *C. trachomatis*, gonokoklardan bağımsız olarak tanımlanan bir sonraki patojendir. Tanımlanamayan patojenlerin geri kalanı daha sonra non-gonokokal, non-klamidyal üretrit (NGNCU) olarak bilinir hale gelmiştir.

Mikoplazma suşları birbirinden daha iyi ayırt edildikten sonra, cinsel yolla bulaşan hastalıkların patogeneizindeki rolleri giderek daha açık hale gelmiştir (10). *M. genitalium*, erkeklerde üretrite neden olan 'gerçek' bir CYBE'dir. Servisit, pelvik inflamatuvar hastalık (PID), endometrit ve kısırlık riski ile ilişkilidir. Bununla birlikte, *Mycoplasma hominis* (*M. hominis*), *Ureaplasma urealyticum* (*U. urealyticum*) ve *Ureaplasma parvum* (*U. parvum*), hem sağlıklı bireylerde hem de semptomatik hastalarda ürogenital sistemde sıklıkla bulunur (11). *U. urealyticum*'un non-gonokokal üretrit, piyelonefrit, spontan düşük, prematüre doğum; *M. hominis*'in immüno-compromize hastalarda piyelonefrit, postpartum ateş ve sistemik enfeksiyonlara neden olabileceği bildirilmektedir (12,13).

Mycoplasma ve *Ureaplasma* enfeksiyonlarının tanısında mikroskopinin tanısal değeri yoktur (12). Tanıda kültür yöntemleri kullanılabilir. Ancak kültürleri zordur, haftalar veya aylar gerektirir (14). Bu etkenlerin tespitinde moleküler yöntemler kullanılabilir (11). İngiliz Cinsel Sağlık ve HIV Derneği (BASHH) klinik örneklerde *M. genitalium* enfeksiyonu tanısında nükleik asit amplifikasyon teknolojilerinin kullanılmasını tek yararlı tanı yöntemi olarak önermektedir (15).

Çalışmamızda üretrit semptomları ile gelen erkek hastalarda *Mycoplasma genitalium*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Ureaplasma parvum* sıklığının moleküler yöntemle araştırılması amaçlanmaktadır. Hastalardan ayrıca

sık rastlanan CYBE etkenlerinden *Trichomonas vaginalis* ile *Neisseria gonorrhoeae* araştırılacaktır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Mikoplazmalar ve Üreaplazmalar

2.1.1. Genel Bilgiler

Mikoplazmalar ve üreaplazmalar, *Mollicutes* sınıfına ait en küçük serbest yaşayan bakterilerdir. Genital mikoplazma ve üreaplazmalar, erişkinlerde ve infantlarda çok farklı enfeksiyonlara neden olabilen karmaşık ve benzersiz mikroorganizma gruplarıdır (12,14). *Mollicutes*, esas olarak, epitel hücreleri ile yakın ilişki içinde konakçıların solunum veya ürogenital yollarında yaşayan, mukoza ile ilişkili organizmalardır (16). Genel olarak *M. hominis*, *M. genitalium* ve *U. urealyticum* gibi genital mikoplazmalar, toplum sağlığına tehdit olarak kabul edilen, genitoüriner sistemde asemptomatik, uzun süreli ve kronik enfeksiyona neden olabilen cinsel yolla bulaşan önemli bakteriyel patojenlerdir (17). Bazı türler, özellikle *M. fermentans*, *M. penetrans*, *M. genitalium* ve hatta belki de bazı durumlarda *M. pneumoniae* ve *M. hominis*, konakçı hücrelerinde intrasellüler olarak bulunur. Bu tür hücre içi yerleşim, enfeksiyonların kronikleşmesine ve konak bağışıklık yanıtından kaçma yeteneklerine katkıda bulunabilir (16). Bu türlerin semptomatik olmayan kişilerde de tespit edilebilmesi nedeniyle fırsatçı patojen gibi davranabildikleri de düşünülmektedir (13).

2.1.2. Sınıflandırılması

Mikoplazmalar; dört takım, beş familya, sekiz cins ve bilinen yaklaşık iki yüz türden oluşan *Mollicutes* sınıfının, *Mycoplasmatales* takımındaki *Mycoplasmataceae* ailesinde yer alırlar (Tablo 2.1) (18). "Mikoplazma" terimi, gerçekte *Mycoplasma* cinsine ait olup olmadıklarına bakılmaksızın, *Mollicutes* sınıfının herhangi bir üyesini belirtmek için yaygın şekilde kullanılır. Bu

mikroorganizmaları "mikoplazmalar", "üreaplazmalar" gibi belirtmek daha doğrudur (18,19). Mikoplazma ve üreaplazmalar, insanlar, böcekler ve kuşlar gibi çeşitli hayvanlardan ve bitkilerden izole edilmiştir. Taksonomik literatürde devamlı olarak yeni türler belirlenmekte ve bildirilmektedir (13).

Tablo 2.1. *Mollicutes* sınıfının sınıflandırılması (18)

<i>Mollicutes</i> sınıfının sınıflandırılması	Sterol gereksinimi	Genom boyutu (kbp)	DNA'nın G+C içeriği (% mol)
Takım I: <i>Mycoplasmatales</i> Aile I: <i>Mycoplasmataceae</i> Cins I: <i>Mycoplasma</i> (118 tür) Cins II: <i>Ureaplasma</i> (7 tür)	Evet Evet	580–1,350 730–1,170	23-40 25-32
Takım II: <i>Entomoplasmatales</i> Aile I: <i>Entomoplasmataceae</i> Cins I: <i>Entomoplasma</i> (6 tür) Cins II: <i>Mesoplasma</i> (11 tür) Aile II: <i>Spiroplasmataceae</i> Cins I: <i>Spiroplasma</i> (38 tür)	Evet Hayır Evet	870-900 825-930 780-2200	27-34 26-32 24-31
Takım III: <i>Acholeplasmatales</i> Aile I: <i>Acholeplasmataceae</i> Cins I: <i>Acholeplasma</i> (18 tür)	Hayır	1500-1650	26-36
Takım IV: <i>Anaeroplasmatales</i> Aile I: <i>Anaeroplasmataceae</i> Cins I: <i>Anaeroplasma</i> (4 tür) Cins II: <i>Asteroleplasma</i> (1 tür)	Evet Hayır	1500-1600 1500	29-33 40

2.1.3. Mikrobiyolojik Özellikleri

Mollicutes, hücresel boyutlarının yanı sıra genom boyutunda da geleneksel bakterilerden daha küçüktür. Bu özellik de onları bilinen en küçük serbest yaşayan

organizmalar yapar ve bakteriyolojik filtrelerden geçebilmelerine olanak sağlar. Bu nedenle önceleri virüs sanılmışlardır (20). Fakat hem deoksiribonükleik asit (DNA) ve hem de ribonükleik asit (RNA) içerdikleri ve *in vivo* koşullarda ekstraselüler yaşayabildikleri için virüslerden ayrılırlar.

Mollicutes kelime anlamı olarak yumuşak cilt anlamına gelmektedir (18). *Mollicutes* sınıfı üyelerinin, üç katmanlı bir hücre zarı bulunur ve hücre duvarları yoktur. Hücre duvarının olmaması onları prokaryotlar arasında benzersiz kılar ve hücre duvarı eksikliğinin çevresel koşulların geçici bir yansıması olduğu bakteri L formlarından ayırır (18). Hücre duvarına sahip olmadıkları ve hücre membranlarında sterol içerdikleri için bakteriler arasında eşsizdirler (12). Hücre duvarının olmaması ayrıca *Mollicutes* sınıfı üyelerini beta-laktam sınıfı antibiyotiklerin aktivitesine karşı duyarsız hale getirir, Gram boyama ile boyanmalarını önler ve pleomorfik formlarından büyük ölçüde sorumludur (16). Mikoplazmalar pleomorfik şekillidir. Şekilleri kokoid formdan (genişlik: 0,2-0,3 µm) konik çubuklara (uzunluk: 1-2 µm; genişlik: 0,1-0,2 µm) kadar değişebilmektedir (12,18).

Mikoplazmalar, zorunlu aerob olan *M. pneumoniae* hariç, fakültatif anaerobiktir. Bütün bakterilerde olduğu gibi ikiye bölünerek çoğalırlar. Üreme sırasında besiyerine serum eklenmesi ile sağlanan eksojen sterollere ihtiyaç duyarlar (12). Üretilibilmeleri için doymuş ve doymamış yağ asitlerinin yanı sıra membran sentezi için ihtiyaç duydukları kolesterol kaynağı olarak at serumu içeren özel kültür ortamı gereklidir (10).

İnsan kaynaklı mikoplazmalar ve üreaplazmalar, glikoz, arginin veya üre kullanıp kullanmadıklarına göre sınıflandırılabilir. Aranan *Mycoplasma* türüne bağlı olarak, maya özütü ve serum içeren zenginleştirilmiş bir pepton bazal besiyerine bu üç substrattan biri ve bir pH indikatörü (genellikle fenol kırmızısı) eklenir. *M. hominis*, arginini amonyak üretimi ve pH'ın nötrden alkaliye kayması ile metabolize eder. Benzer şekilde, *U. urealyticum* üreyi amonyağa hidrolize eden üreaz enzimleri üretir ve bu da alkali pH kayması ile sonuçlanır (13). Arginin veya üre ilavesi *M. hominis* ve üreaplazmaların büyümesini sağlar (10).

2.1.4. Antijenik Özellikleri

Konak hücre yüzeylerinde lokalizasyon ve tutunma, mikoplazmaların kolonize olması ve ardından patolojik lezyonlar meydana getirmesi açısından önemlidir (16).

M. genitalium'da yedi protein, adezyonu ve hücre hareketini düzenler. En kapsamlı araştırılanlar MgPa (MG191 ve P140) ve P110 (MG192)'dur (10). MgPa operonu tarafından kodlanan iki adezin proteini, bu organizmadaki başlıca yüzey proteinleridir. Bunlar terminal organel yapısının gelişmesinde ve organizmanın konak epitel hücrelerine bağlanmasında gereklidir (21).

M. hominis'de majör bir tutunma molekülü olduğuna inanılan ve aynı zamanda antijenik varyasyon yoluyla konakçı bağışıklık tepkilerinden kaçmaya yardımcı olabilen variable-adherence-associated antigen (Vaa) varlığı gösterilmiştir (22). *M. hominis*'in arginin metabolizması ve üreaplazmalardaki üreaz aktivitesi, potansiyel virülans faktörleri olarak öne sürülmüştür. *M. hominis*, arginin hidrolizi ile, CO₂ ve NH₃'ün son ürünler olduğu üç enzim yolunu kullanan bir süreç sayesinde ATP üretir. NH₃'ün büyük miktarlarda salınması in vitro olarak arginini tüketerek sitotoksik bir etkiye neden olabilmektedir (16).

Üreaplazmalar çeşitli hücre tiplerine bakteri hücresinin yüzeyinde eksprese edilen adezin proteinlerinin aracılık etmesi ile bağlanır. MB antijeni, serotipe özgü, çapraz reaktif epitoplara içeren ve insan üreaplazma enfeksiyonları sırasında tanınan önemli bir antijendir. Üreaplazmaların hastalık oluşumu ile ilişkili olabilecek IgA proteaz ürettiği bilinmektedir (18). *Ureaplasma* spp. izolatında IgA1 proteaz aktivitesi bildirilmiş ve insan olmayan konakçılardan gelen üreaplazmaların, insan IgA'sını parçalayamadığı görülmüştür. İnsan suşları, domuz veya köpek IgA'sını parçalayamadığı için bu enzimin konak spesifikliğinde mukozal kolonizasyonu kolaylaştırmada rol oynayabileceği tahmin edilmiştir (23).

Ureaplasma türlerinde üreaz enzimi ile ürenin hidrolizi sonucunda NH₃'ün salınımı meydana gelir. Ürenin hidrolizi, bu organizmaların ATP ürettiği temel yoldur ve bu bakımdan onları *Mollicutes* sınıfında benzersiz kılar. NH₃'ün idrar yolunda salınması, idrar pH'sının yükselmesine ve struvit olarak da bilinen

magnezyum amonyum fosfat taşlarının oluşmasına neden olabilir (16). Yapılan çalışmalarda, *Ureaplasma* spp.'nin üreaz aktivitesi ile idrar yolunda enfeksiyon taşlarının oluşumuyla bağlantılı olduğu gösterilmiştir (24). *Ureaplasma* lökositlere, eritrositlere, spermatozoaya ve mukozal hücrelere saldırabilir (1).

2.1.5. Epidemiyolojisi

İnsanlarda mikoplazmalar ve üreaplazmalar, konakçılar arasında doğrudan temas yoluyla, yani genital-genital veya oral-genital temas yoluyla cinsel olarak, vertikal olarak doğumda veya in-utero anneden bebeğe bulaşabilir (18). Mikoplazmal kolonizasyon tipik olarak vajinal doğum sırasında meydana gelir ancak sezaryen sonrası da nadiren saptanır. Ergenliğin ve cinsel aktivitenin başlamasından sonra, mikoplazma saptanma sıklığı cinsel partner sayısına bağlıdır. Sıklık, *N. gonorrhoeae* ve *C. trachomatis*'in saptanma oranı arasındadır (10).

İnsanlarda, mikoplazmalar ve üreaplazmalar mukoza ile ilişkilidir ve ağırlıklı olarak solunum yolunda veya ürogenital bölgede bulunurlar. Kan dolaşımına geçebildikleri ve vücutta birçok farklı organ ve dokuya yayılabildikleri immünsüpresyon veya enstrümantasyon durumları dışında nadiren submukozaya girerler. Sağlıklı erkek ve kadınlarda alt ürogenital sistemde *M. hominis* ve üreaplazma gibi patojenik türlerin sık görülmesi, bunların hastalık etkeni olabilme yeteneklerinin tam olarak anlaşılmasını zorlaştırmıştır (18).

M. genitalium, ilk kez NGU'su olan bir erkek hastada 1980 yılında tanımlanmıştır. Erkeklerde kadınlardan daha fazla klinik hastalık oluşturan, cinsel yolla bulaşan bir mikroorganizmadır (25). Genel popülasyonda prevalansın %1-%2 arasında olduğu ve cinsel sağlık kliniklerine başvuran hastalarda %4-%38 arasında değiştiği tahmin edilmektedir (15). Bu kliniklere başvuran erkek hastalar %70 oranında semptomatik olabilmektedir. *M. genitalium*'un NGNCU'nun %10-35'inde etken olduğu gösterilmiştir (17).

M. hominis, serviks veya vajinanın mukozal yüzeylerinde kommensal olarak bulunur. Kolonizasyon oranları dünya genelinde %20 ile %30 arasında

değişmektedir. Birkaç çalışma, *M. hominis*'in potansiyel olarak patojenik olduğunu ve bazen bakteriyel vajinozis, piyelonefrit, PID, koryoamniyonit, endometrit, erken doğum, spontan düşük, ölü doğum, postpartum ateş, perinatal mortalite ve infertiliteye neden olabildiğini göstermiştir (17).

Üreaplazmalar, %40-80 kolonizasyon oranıyla normal genital floranın bir parçası olarak kabul edilir. Buna rağmen üreaplazmalar NGU, prostatit, idrar taşları, jinekolojik hastalıklar, infertilite ve yenidoğanlarda kronik akciğer hastalığı gibi çeşitli hastalıklarda suçlanmıştır (26). Ergenliğin ardından *Ureaplasma* spp. ve *M. hominis*, cinsel yönden aktif birçok sağlıklı yetişkinde alt genital sistemden izole edilebilir. Bununla birlikte bu organizmaların bazı genital sistem hastalıklarında etiyolojik roller oynadığına dair kanıtlar vardır. İnsan ve hayvan çalışmalarının sonuçları ve bağışıklığı baskılanmış kişilerin gözlemlenmesi, üreaplazmaların erkeklerde NGNCU'nun bir nedeni olduğunu desteklemektedir (18).

2.1.6. Klinik

M. genitalium; üretrit, dizüri, üretral akıntı, proktit, balanopostitis ile ilişkilendirilmiştir. Cinsel yolla edinilen reaktif artrit ve epididimit şeklinde komplikasyonlar oluşturabilmektedir (27). *M. genitalium* akut NGU ile güçlü bir şekilde ilişkilendirilmiştir (28). Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile yapılan çalışmalarda akut NGU'lu erkeklerden alınan üretral numunelerde üretriti olmayanlara göre önemli ölçüde daha sık tespit edilmiştir ve artık hastalığın nedenlerinden biri olarak kabul edilmektedir. *M. genitalium* pozitif erkeklerin, *C. trachomatis* ile enfekte olanlara göre önemli ölçüde daha sık semptomatik üretrit geçirdiği bulunmuştur (18). *M. genitalium*'un neden olduğu üretritin tipik semptomları, diğer nedenlere bağlı üretritte bildirilenlere benzerdir. Dizüri, üretral kaşıntı ve pürülan veya mukopürülan üretral akıntı şeklinde gözlenir. Erkeklerle cinsel ilişkiye giren erkeklerde rektal *M. genitalium* enfeksiyon oranları yüksek olsa da, *M. genitalium*'un proktite neden olup olmadığı kesin değildir (29).

M. hominis ve *Ureaplasma* spp. için yaş ve artan cinsel deneyimle birlikte daha yüksek kolonizasyon oranları belirtilmektedir (1). Ergenlikten sonra,

Ureaplasma spp. ve *M. hominis*, cinsel yönden aktif birçok sağlıklı yetişkinde alt genital sistemden izole edilebilmektedir ancak bu organizmaların genital sistem hastalıklarında etiyolojik rol oynadığına dair kanıtlar da vardır. *U. urealyticum* NGU ile ilişkilendirilmiştir (1). *U. urealyticum*'un NGU vakalarının yaklaşık %3-11'inden sorumlu olabileceği belirtilmektedir. *U. parvum*'un, özellikle çok sayıda bulunduğunda, NGU'ya neden olabileceği bazı çalışmalarda  ne sürülmüştür (30,31).

M. hominis'in NGU'ya neden olduğuna dair kanıtlar azdır (18). *M. hominis*'in özellikle önceden enstrümantasyon yapıldığında veya obstrüksiyon varlığında, akut piyelonefrit vakalarının %5'inden sorumlu olabileceği bildirilmiştir (32). *M. fermentans*, ilerlemiş HIV hastalarında genital enfeksiyonlarla ilişkilendirilmiştir (1).

2.1.7. Mikoplazmaların Laboratuvar Tanısı

 rnek Alınması ve Transportu

Mikoplazmaları kültür veya kültür dışı yöntemlerle tespit etmek için uygun vücut sıvıları arasında kan, eklem sıvısı, amniyotik sıvı, beyin omurilik sıvısı, idrar, prostat salgıları, meni, yara aspiratları, balgam, plevral sıvı, bronkoalveolar lavaj sıvısı veya diğer trakeobronşiyal salgılar bulunur. Nazofarenks, boğaz, serviks/vajina, yaralar ve üretradan alınan sürüntüler de kabul edilebilir. Plasenta, endometrium ve idrar taşları dahil biyopsi veya otopsiden alınan dokular da kullanılabilir. Mikoplazmaların genitoüriner sistemdeki lokalizasyonunun belirlenmesi isteniyorsa, idrara çıkma sırasında çeşitli aşamalarda veya prostat masajından sonra idrar örnekleri alınabilir (18).

PZR ile *M. genitalium* gibi g   üreyen mikoplazmaların saptanması için genellikle idrar örnekleri üretral s r nt lerden daha duyarlıdır (33).

Mikoplazmalar esas olarak hücre ile ilişkili olduğundan, sürüntü örnekleri kullanıldığında mümkün olduğu kadar çok hücre elde etmek için istenen bölgeden kuvvetli bir şekilde örnek almaya  zen gösterilmelidir (18).  rnek alımında

alüminyum veya plastik şaftlı dakron veya polyester swablar tercih edilir. İnhibitör etkileri olduğu için tahta şaftlı pamuklu çubuklardan kaçınılmalıdır. Örneklerin jinekolojik işlemlerde yaygın olarak kullanılan kayganlaştırıcılar veya antiseptikler ile kontamine olmamasına özen gösterilmelidir (34). Mikoplazmalar, özellikle kuruluk ve ısı gibi olumsuz çevresel koşullara karşı son derece hassastır. Örnekler, uygun taşıma ve/veya kültür besiyeri kullanılarak mümkün olduğunca yatak başında ekilmelidir (34).

Sıvı örnekler; örneklerin buharlaşmaya karşı korunması şartıyla, 1 saat içinde ekilebiliyorsa özel taşıma ortamı gerektirmez. Dokular sıkıca kapatılabilen steril bir kaba yerleştirilebilir ve hemen laboratuvara teslim edilebilir. Aksi takdirde, kültür inokülasyonunda gecikme bekleniyorsa doku örnekleri taşıma ortamına yerleştirilmelidir (18). Ticari olarak hazırlanmış SP4 veya 10B brothlar (Thermo Fisher, Waltham, MA, Hardy Diagnostics, Santa Maria, CA) gibi sıvı besiyerleri taşıma besiyeri olarak hizmet edebilir. %0,5 sığır albümini içeren triptik soy broth (Thermo Fisher, Waltham, MA) da kabul edilebilir taşıma besiyerlerinden biridir (34).

A3B (Thermo Fisher, Waltham, MA) gibi özel sıvı taşıma besiyerleri, diğer besiyerlerinde bulunan bazı büyüme takviyelerinin kaldırılması ile tasarlanmıştır. Böylece üreaplazmaların ürealitik aktivitesinin neden olduğu pH artışı geciktirilebilir, bu da taşıma sırasında organizmalar için daha az toksisiteye neden olur (18). Mikoplazmalar ve/veya üreaplazmalar için kültür yapılacak örneklerin taşınmasında M4, M5 ve M6 (Thermo Fisher), UTM (Copan Diagnostics, Murrieta, CA) ve BD UVT medium (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ) kullanılabileceği bildirilmiştir (18).

Mikroskopi

Mikoplazmalar rutin ışık mikroskobu ile net olarak görüntülenemez. Mikoplazmalar hücre duvarının olmaması nedeniyle Gram boyama ile boyanamaz ancak bu işlem kontaminant bakterileri dışlamak için yararlı olabilir. *M. genitalium*

genital sıvılarda, *M. hominis* vücut sıvılarında DNA florokrom boyaları (acridine orange) kullanılarak tespit edilebilir, ancak bu yöntem spesifik değildir (18).

Kültür

Patojenik insan mikoplazmaları serum, maya özütü gibi büyüme faktörleri ve metabolik substratlara ihtiyaç duyarlar. Türler gereklilikler değişir. *M. hominis* için arjiinin eklenen SP4 broth ve agar (pH 7,5) genel olarak en iyi besiyerleridir. Shepard'ın 10B broth'u (pH 6,0), katı besiyeri olarak A8, *M. hominis* ve *Ureaplasma* spp. için kullanılabilir (18). Üreaplasma türleri üremek için üreye ihtiyaç duyar fakat ürenin metabolizması sonucu oluşan yüksek alkali ortam nedeniyle üreme inhibe olmaktadır. Bu nedenle besiyerine mutlaka üre eklenmelidir ve yüksek oranda tamponlanmalıdır. Buna rağmen yine de üreaplazmalar ilk izolasyondan sonra hızlı bir şekilde ölmektedir (12).

Mikoplazmalar, zorunlu aerob olan *M. pneumoniae* hariç, fakültatif anaerobiktir (28). Besiyerlerinin inkübasyonu 37°C'de olmalıdır, %5-%10 CO₂ üremeyi artırır (34).

Sıvı (broth) kültürler *Ureaplasma* spp. için organizmanın kültürdeki ani ölüm fazı nedeniyle yedi güne kadar günde iki kez ürenin hidrolizinden kaynaklanan renk değişikliği açısından incelenmelidir (18). Agar plakları stereomikroskop kullanılarak $\times 20$ ila $\times 60$ büyütmede *Ureaplasma* spp. için günlük, *M. hominis* için bir-üç günlük aralıklarla ve *M. pneumoniae* ve diğer yavaş büyüyen türler için her üç-beş günde bir incelenmelidir (34). Üreaplasma kolonileri besiyerinde bulunan CaCl₂ indikatörü varlığında üreaz üretimi ile A8 agar üzerinde tanımlanabilir (18).

Kültür ortamındaki üreme süreleri türler arasında farklılık gösterir. *Ureaplasma* spp. ve *M. hominis* için yaklaşık 1-1,5 saat, *M. pneumoniae* için 6 saat ve *M. genitalium* için 16 saat olarak bilinmektedir (19). Tipik mikoplazma kolonilerinin çapları 15-300 μ m arasında değişmektedir. *M. hominis* gibi bazı türlerin kolonileri, koloninin merkezi ile periferindeki büyüme arasındaki fark nedeniyle sıklıkla “sahanda yumurta” (fried-egg) görünümü sergiler. Mikoplazma türlerinin kolonileri çıplak gözle görülebilirken, üreaplazmalar tarafından üretilen

kolonilerin çapı tipik olarak 15-60 µm arasındadır ve görebilmek için mikroskopik büyütme gerekir (18). *M. hominis* bazen Columbia agar gibi bakteriyolojik besiyerlerinde noktasal koloniler olarak görünür. Bu kolonilerdeki bakterinin Gram boyama ile boyanmaması, olası mikoplazma hakkında bir ipucu vererek, spesifik değerlendirme ve pasaj yapılması konusunda yol gösterici olabilir.

Ticari Mikoplazma Kültür Sistemleri

Birçok klinik laboratuvarın mikoplazma kültürüne yönelik artan isteklerine yanıt olarak, çok sayıda şirket taşıma ve üretme besiyerleri geliştirmiştir (18). Genital mikoplazmaların üretilmesi ve tanımlanması için yaygın olarak kullanılan ticari sistemler de vardır (13).

Mycoscreen Plus (Elitech Microbiology, Signes, Fransa) spesifik liyofilize substratlar ve inhibitörler içeren kuyucuklara sahip şeritlerden oluşur. Örnekler, kuyucukları doldurmak için kullanılan bir taşıma besiyerine yerleştirilir (18). Organizmaların saptanması, tanımlanması ve miktarının belirlenmesi, substratlar ve inhibitörler içeren spesifik kuyucukların renk değişimine dayanmaktadır.

M. hominis ve *U. urealyticum*'un tanımlanması ve duyarlılık testi için ticari olarak temin edilebilen diğer sistemler de mevcuttur (MYCOFAST US (Wescor, Utah) ve MYCOFAST Evolution 3 (Elitech Microbiology, Signes, Fransa)). Örnekler için özel bir taşıma besiyeri ve genital mikoplazmalar mevcutsa metabolize olan üre ve arginin içeren ortamlara inokülasyon için plastik bir stripe sahip olan sistemlerdir. Her organizma için sayım kuyuları ve iki organizmanın ayrımı için kullanılan antibiyotik içeren kuyular vardır (13). *M. hominis* ve *U. urealyticum*'un tespiti için kullanıldığı çalışmalar vardır (35).

Kültür *M. hominis* ve *Ureaplasma* spp. gibi klinik örneklerden kolay ve hızlı bir şekilde izole edilebilen türler için uygun olmasına rağmen, *M. genitalium* gibi güç üreyen ve/veya son derece yavaş büyüyen organizmaların saptanması için ideal değildir. Bu nedenle, bu organizmalar için kültür denense bile, kültüre dayalı olmayan alternatif saptama yöntemleri kullanılmalıdır (18).

Nükleik Asit Tespiti

İnsanlarda klinik açıdan önemli olan mikoplazma türleri için PZR sistemleri geliştirilmiştir. Tek bir numune kullanarak bir günde sonuç vermesi kültür ve serolojiye göre avantajlarıdır. Ölçülebilir antikorlar için birkaç gün veya daha fazla zaman gerekmesi nedeniyle PZR testleri serolojiye göre daha erken tanı sağlar. Gerçek zamanlı PZR testleri mikoplazmaların ve üreaplazmaların saptanması için tercih edilen PZR yöntemidir. Daha hızlı olması ve geleneksel PZR tekniklerine göre daha duyarlı olması avantajları arasındadır (18).

Erkeklerde *M. genitalium* enfeksiyonu tanısında, nükleik asit amplifikasyon testleri (NAAT) için tercih edilen örnek ilk akım idrarıdır (33,36). *M. genitalium* için kantitatif, hızlı, gerçek zamanlı PZR analizleri, MgPa operon, 16S rRNA (16S ribozomal RNA), 115-kDa protein kodlayan gen ve gliseraldehit-3-fosfat dehidrojenaz kodlayan bölge gibi hedefleri kullanmıştır (37). *M. hominis* için PZR testlerinde esas olarak 16S rRNA kullanılmıştır (38). *M. hominis*'in 16S rRNA geninde bir miktar heterojenlik bildirildiğinden, gap, fstY ve yidC dahil olmak üzere diğer genleri hedef alan testler de geliştirilmiştir (39).

PZR testleri, üreaplazma türlerini saptamak ve tanımlamak için de kullanılabilir. Jel bazlı geleneksel PZR testleri, 16S rRNA ve 16S rRNA-23S rRNA intergenik ara bölgeleri, üreaz geni ve mba dizilerini hedef alırken, gerçek zamanlı PZR testleri esas olarak üreaz genlerini ve alt birimlerini veya mba'yı hedeflemiştir (18).

PZR teknolojisi, *M. hominis* ve *Ureaplasma* spp. gibi daha hızlı üreyen ve nispeten kolay üretilen organizmalar söz konusu olduğunda rutin tanı için daha az değerlidir. Ancak bu yöntem üreaplazmal enfeksiyonların klinik çalışmalarında değerli olabilir. PZR tabanlı teknikler *U. urealyticum* ve *U. parvum*'u ayırt edebilmesine rağmen, rutin klinikte gerekli değildir (18).

Birçok ülkede, *M. hominis*, *U. parvum* ve/veya *U. urealyticum* ile birlikte virüs dışı "gerçek" CYBE ajanlarını saptayan multipleks PZR testleri kullanıma sunulmuştur (11). *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae* ve diğer ürogenital

mikoplazmalar ve üreaplazmalarla birlikte *M. genitalium*'un tanısı için multipleks PZR tabanlı sistemler birçok Avrupa ülkesinde kitler halinde satılmaktadır (18).

2.2. *Neisseria gonorrhoeae*

2.2.1. Genel Bilgiler

N. gonorrhoeae, hem erkekleri hem de kadınları etkileyen cinsel yolla bulaşan bir enfeksiyon etkenidir (40). Genellikle ürogenital sistemin mukozal enfeksiyonlarına neden olur (41).

Gonokokal bulaşma, enfekte bir kişiden ürogenital sistem, anal kanal, orofarenks, bazen göz (konjonktivit) ve genellikle cinsel aktivite sırasında doğrudan temas yoluyla oluşur (42). *N. gonorrhoeae* enfeksiyonları erkeklerde en sık üretrit ve kadınlarda da servisit ile sonuçlanır, ancak kadınlarda üretrit de görülür (43). Semptomatik enfeksiyon, güçlü bir inflamatuvar yanıt ve neredeyse tamamen gonokoklardan ve toplanmış polimorfonükleer lökositlerden (PMNL) oluşan pürülan bir akıntı ile karakterizedir. Ürogenital sistemden pürülan eksüda genellikle enfekte erkeklerde gözlenir, enfekte kadınlarda daha az fark edilir (44).

2.2.2. Sınıflandırılması

Neisseria cinsi, *Betaproteobacteria* sınıfındaki *Neisseriales* takımının *Neisseriaceae* familyasına aittir. *Neisseriaceae* ailesi, *Neisseria* cinsini ve *Kingella* ve *Eikenella* gibi diğer cinsleri içerir (45).

2.2.3. Mikrobiyolojik Özellikleri

N. gonorrhoeae hareketsiz, sporsuz, Gram negatif boyanan, oksidaz ve katalaz pozitif, kapnofilik bir bakteridir (45). Diplokoktur. Mikroskopta karakteristik olarak, bitişik kenarları düzleşmiş, bir böbrek veya kahve çekirdeği

görünümüne neden olan birleşmiş iki hücreden oluşur (46). Bazı türler monokok veya bazen de tetrad olarak görülebilir (44).

Filogenetik analizler, *N. gonorrhoeae* ve *N. meningitidis*'in ortak bir atadan evrimleştiğini, ancak şimdi genital mukoza ve nazofaringeal mukozayı işgal eden ayrı soyları temsil ettiğini göstermektedir. Patojenik olmayan kommensal *Neisseria* türleri, insan nazal ve orofaringeal florasının önemli bir bölümünü oluşturur (47).

Neisseria türleri karbonhidratlardan fermentasyon değil oksidasyon yoluyla asit üretir. *N. gonorrhoeae* tarafından kullanılan tek karbonhidrat glikozdur. Ekzotoksin üretmezler (45).

2.2.4. Antijenik Özellikleri

Patojenik *Neisseria* türleri, virülansa katkıda bulunan çeşitli faktörlere ve özelliklere sahiptir (46). *N. gonorrhoeae*'nin pilus proteininin antijenik özelliklerine göre ayrılan çeşitli serotipleri vardır. Piluslarında belirgin antijenik farklar bulunan *N. gonorrhoeae*'nin buna göre yüzden fazla serotipi tanımlanmıştır. Antifagositik oldukları ve mukozal yüzeye tutunma sağladıkları için piluslar en önemli virulans faktörlerindendir (48). Etkili mukozal kolonizasyon (tipik olarak siliyer olmayan kolumnar epitel) için gonokokal pili gereklidir. Pili konakçı hücrelere ve dokulara ilk yapışma, kendi kendine yapışma ve diğer *N. gonorrhoeae* hücrelerine yapışma dahil olmak üzere birçok işlevi yerine getirir (43). *N. gonorrhoeae* tutunması ve kolonizasyonu, büyük ölçüde epitel hücre yüzeyinde mikrokoloniler oluşturan tip IV pili'ye bağlıdır (47). *N. gonorrhoeae*'nin klinik izolatları her zaman pilusludur, ancak çeşitli mekanizmalar yoluyla laboratuvarıda kültürlerinde pilus ekspresyonu hızla kaybolur, bu da pilus ekspresyonunun enfeksiyon sırasında güçlü bir seçici baskı altında olduğunu gösterir (43).

N. gonorrhoeae'nin hücre duvarında bulunan dış membran proteini (OMP) antijenleri diğer virulans faktörlerindendir. Protein I, II, III olmak üzere üç adet OMP bulunur. Protein II hücrelere tutunmada rol oynar ve antijenik olarak değişkendir (48).

N. gonorrhoeae'nın hücre duvarında bulunan lipooligosakkarit (LOS) diğer virulans faktörlerindendir (48). LOS, dış zarın dış bölümünde lokalizedir ve yapı olarak her yerde bulunan bakteriyel lipopolisakkaritlere benzer, ancak LOS'ta O-antijen polimeri bulunmaz. LOS ve asialoglikoprotein reseptörleri arasındaki etkileşim, erkeklerin üretrasında epitelyal invazyonu teşvik ederken, kompleman reseptörü 3 (CR3) alt servikal genital sistemde invazyona aracılık eden reseptör olarak hizmet eder. Lutropin-koriogonadotropik hormon reseptörü, endometriumda ve fallop tüplerinde reseptör olarak görev yapar (47).

Bir konağa yerleşmek için gereken faktörler arasında tip IV pilus, opasite protein ailesi (Opa proteinleri), porin PorB, eflüks pompaları ve metal taşıma sistemleri yer alır (43). Opa proteinleri esas olarak birçok farklı hücre ve dokuda bulunan çeşitli reseptörlere bağlanan ve daha yakın bağlanmaya ve mikrokoloni oluşumunun başlamasına aracılık eden adezinler olarak işlev görür (43). Opa proteinleri, tip IV pili ile ilk temastan sonra yapışmaya aracılık etmesinin yanı sıra antijenik varyasyon ile immün kaçışa da aracılık eder (47).

Tüm Gram negatif bakteriyel porinler (transmembran kanal proteinleri), küçük moleküllerin periplazmaya erişmesine izin verecek şekilde hareket eder (43). *N. gonorrhoeae* porin (PorB), dış zarda en bol bulunan proteinlerden biridir; bağlanmayı artırır ve fagositlerin bakterileri öldürme yeteneğini bozar (43). Porin kompleman faktörlerini bağlar, C4b-bağlayıcı protein (C4BP) ve faktör H ve nötrofil oksidatif patlamayı ve nötrofil apoptozunu baskılar (47). Eflüks pompaları enfeksiyon sırasında karşılaşılan yağ asitleri ve katyonik peptitler gibi toksik moleküllerin uzaklaştırılması ve antimikrobiyallerin hücreden uzaklaştırılması dahil olmak üzere patogeneizde birçok role sahiptir (43).

Gonokoklar aynı zamanda humoral ve salgısal IgA1'i Fab ve Fc fragmanlarına bölebilen, potansiyel olarak salgısal IgA'nın etkilerini nötralize edebilen ve enfeksiyona karşı mukozal direnci ortadan kaldıran bir immünoglobulin A (IgA1) proteazı üretir. Bu organizmalar tarafından mukozal yüzeylerin kolonizasyonu ve takiben enfeksiyonu demir gerektirir ve transferrin ve laktoferrinden demir salmak için genetik olarak düzenlenmiş enzimatik yöntemlere

sahiptir. Bu da bakteriyel metabolizma için serbest demiri kullanılabilir hale getirir (46).

N. gonorrhoeae in vitro olarak abiyotik yüzeyler ve epitel hücreleri üzerinde biyofilmler oluşturabilir; bununla birlikte, biyofilmlerin enfeksiyon sırasındaki kesin rolü henüz belirlenmemiştir. Enfeksiyon sırasındaki stabil mukozal kolonizasyonuna mikrokoloniler mi, biyofilmler mi yoksa her ikisinin bir kombinasyonunun mu aracılık ettiği bilinmemektedir (47).

2.2.5. Epidemiyolojisi

Gonore, hastalığı Yunanca gonor (“tohum”) ve rhoia (“akış”) sözcüklerinden köken alır, semenin akışı anlamına gelmektedir ve Galen (MS 2. yüzyıl) kadar eski bir tarihten beri bilinmektedir (46). On üçüncü yüzyılda cinsel yolla bulaşan bir enfeksiyon olarak iyi bilinmesine rağmen, gonore 19. yüzyılın ortalarına kadar sifilizden ayırt edilememiştir. Gonorenin etiyolojik ajanı olan *N. gonorrhoeae*, 1897 yılında Almanya'da Breslau Üniversitesi'nde Albert Neisser tarafından genital sistemde ve konjonktivadaki pürülan eksüdalarda ilk kez gözlenmiştir (46).

DSÖ (Dünya Sağlık Örgütü) 2020 yılında, 82 milyon yeni gonore enfeksiyonu tahmin etmiştir (3). Gonore, Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde ikinci en yaygın rapor edilen cinsel yolla bulaşan hastalık olmaya devam etmektedir (46). *N. gonorrhoeae* Amerika'da her yıl 300.000'den fazla cinsel yolla bulaşan enfeksiyona neden olan bir bakteridir (1).

Gonorenin epidemiyolojik çeşitliliği ve coğrafi dağılımın değişkenliğinin belirleyicileri arasında cinsellik ve cinsel yönelim, sosyoekonomik, demografik, coğrafi ve kültürel özellikler yer alır (43). Gonore insidansı, tüm ırklarda cinsel olarak aktif gençler (10-19 yaş arası) ve genç yetişkinler (20-24 yaş arası) arasında yüksektir ve en yüksek atak oranları 15-19 yaşındaki kadınlar arasındadır (46). Gonore edinme riski maruz kalma sıklığı ve bölgeleri ile ilişkilidir. Heteroseksüel erkekler için, enfekte bir kadından üretral enfeksiyon kapma riski, tek bir maruziyet için yaklaşık %20 ve dört maruziyet için %80 kadardır. Enfekte bir erkekle tek bir

maruziyet durumunda, kadının enfeksiyon kapma riski çok daha yüksektir, maruz kalma başına %50 ila %70 civarındadır (46).

2.2.6. Klinik

Erkeklerde sıklıkla maruziyetten iki-sekiz gün sonra ortaya çıkan üretral akıntı ya da dizürinin eşlik ettiği üretrit tablosuyla kendini gösterir (1). Asemptomatik enfeksiyon erkeklerde %10 gibi bir oranda görülürken, kadınlarda asemptomatik enfeksiyon daha sıktır (45). Çoğunlukla asemptomatik olan rektal ve faringeal gonore en sık erkeklerle cinsel ilişkiye giren erkeklerde tespit edilir, ancak kadınlarda da nadir değildir. Nadir durumlarda, gonokoklar, enfeksiyonun ilk bölgesinden kan dolaşımına yayılarak, yaygın gonokok enfeksiyonuna ve buna bağlı artrit ve endokardit gibi komplikasyonlara neden olabilir (44). Yaygın gonokok enfeksiyonları hem yetişkinlerde hem de yenidoğanlarda ortaya çıkabilir (43).

2.2.7. *Neisseria gonorrhoeae*'nin Laboratuvar Tanısı

Örnek Alınması ve Transportu

Erkeklerde örnek üretranın ön kısmından, eküvyon 2 cm kadar sokulup döndürülerek alınabilir (45). Kadınlarda *Neisseria* tanısı için vajina veya endoserviksten genital sürüntüler, ilk akım idrarı ve sıvı bazlı servikal sitolojiden örnekler toplanabilir. Vajinal örnekler ve idrar örnekleri, daha az invaziv oldukları ve minimum rahatsızlıkla hastalar tarafından kendi kendine alınabildikleri için kadınlar tarafından sıklıkla tercih edilir (41).

N. gonorrhoeae'nin kültürde izolasyonunu optimize etmek için, numune toplama swablarında plastik veya telden (ahşap değil), uçları Dakron veya suni ipekten (pamuk değil) yapılmış şaftlar olmalıdır (41). Doğrudan hasta başında ekim, gonokokların kültür verimlerini en üst düzeye çıkarsa da, bu yaklaşım her zaman pratik veya mümkün değildir. Bu gibi durumlarda, swabları laboratuvara

taşımak için Amies bazlı yarı katı taşıma besiyeri kullanılabilir. Bu besiyerlerinde taşınan swabların alındıktan sonra 6 saat içinde işlenmesi tavsiye edilir. Taşıma sırasında oda sıcaklığında tutulmalı ve soğutulmamalıdır (45).

Mikrobiyolojik tanı, mikroskopide Gram negatif diplokokların saptanması, *N. gonorrhoeae* kültürü ve/veya *N. gonorrhoeae* DNA veya RNA'sını saptayan NAAT'ler kullanılarak gerçekleştirilir (43).

Mikroskopi

N. gonorrhoeae Gram boyamada, genellikle PMNL içinde, tipik morfolojiye sahip Gram negatif diplokoklar olarak görülür (49).

Semptomatik üretritli erkeklerde semptomları desteklemek için Gram boyama kullanılabilir (43). PMNL'lerde karakteristik Gram negatif diplokokların varlığını test eden Gram boyamanın duyarlılığı ve özgüllüğü, çalışmalar arasında önemli ölçüde değişiklik gösterebilir ve numuneye bağlıdır. En yüksek duyarlılık ve özgüllük semptomatik erkeklerden alınan üretral sürüntü örnekleriyle elde edilmiştir. Aseptomatik erkeklerden elde edilen üretral örneklerde ve kadınlardan endoservikal veya üretral örneklerde duyarlılık %40-50 kadar düşük bulunmuştur. Faringeal örneklerden (benzer morfolojiye sahip diğer *Neisseria* türleri ağız ve nazofaringeal kavitede yaygın olduğundan) veya rektal örneklerden Gram boyama *N. gonorrhoeae* tanısı için uygun değildir (43).

Kültür

N. gonorrhoeae'nin kültürde üretilmesi, diğer birçok ortak bakterinin üremesini destekleyen çikolata agarın kullanılmasını gerektirir. *N. gonorrhoeae*'yi mukozal ve diğer steril olmayan vücut bölgelerinden izole etmek için, inhibitör ajanların bir karışımını içeren birkaç seçici besiyeri geliştirilmiştir. Hepsi, sırasıyla Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerin baskılanması için vankomisin ve kolistin antibiyotiklerini içerir. Thayer ve Martin tarafından geliştirilen prototip besiyeri, vankomisin ve kolistine ek olarak mayaların inhibisyonu için nistatin içeren bir

besiyeridir. Martin-Lewis besiyeri, nistatin yerine *Candida albicans*'a karşı artan aktiviteye sahip olan anisomisin içerir. New York City besiyeri, maya diyalizati, sitratlı at plazması ve parçalanmış at eritrositleri içeren bir agardır. Vankomisin, kolistin, amfoterisin B ve trimetoprim antibiyotiklerini içerir.

Örnekler, ısıtılmış veya oda sıcaklığındaki besiyerlerine ekilmelidir. Besiyerleri, ekimden sonra nemli bir atmosferde %3-%7 CO₂ ile 35-37°C'de inkübe edilmelidir. Çikolata agar üzerinde, *N. gonorrhoeae* kolonileri 1 mm çapa kadar, grimsi beyaz, parlak ve konvektir. Morfoloji, pili ve opasite proteinlerinin varlığına bağlı olarak değişebilir. Pili ve opasite proteinlerini eksprese eden *N. gonorrhoeae* kolonileri buruşuk ve net bir kenar ile iyi tanımlanmış iken, pili olmayan koloniler daha dağınık kenarlara sahiptir ve daha parlaktır (45). *N. gonorrhoeae* izolatlarının ön tanımlaması sıklıkla seçici besiyerinde tipik koloni görünümü, Gram boyalı mikroskopi ve sitokrom oksidaz varlığını saptayan oksidaz testi ile gerçekleştirilir (43).

NAAT'den önce, *N. gonorrhoeae* kültürü altın standarttı. Kültür düşük maliyetli bir yöntem olduğu için bazı yerlerde mevcut olan tek tanı yöntemi olmaya devam etmektedir. Ayrıca antimikrobiyal duyarlılık testi yalnızca *N. gonorrhoeae* kültürü yapılırsa gerçekleştirilebilir. Kültür performansı, kültürü yapılan örneğin anatomik bölgesi, örnek toplama yöntemi, ortam ve örneği tanı merkezine taşımak için kullanılan koşullar gibi faktörlere bağlıdır (43). Ürogenital örneklerin kültürü genellikle %72-%95 arasında değişen bir duyarlılığa sahiptir, ancak uygun örnek işleme ve kültür konusunda deneyime sahip yerlerde %95-100 duyarlılığa sahip olabilir. Bununla birlikte, faringeal ve rektal örneklerin kültürünün duyarlılığı çok daha düşüktür.

Nükleik Asit Tespiti

Kesin *N. gonorrhoeae* tanımlaması için, sıklıkla PorB'yi hedefleyen immünolojik testler, şeker kullanım testleri veya diğer biyokimyasal testler, NAAT'ler veya kütle spektrometrisi sıklıkla kullanılır. Bu testler *N. gonorrhoeae*'yi *N. meningitidis*, *Neisseria lactamica*, *Neisseria cinerea*, *Neisseria subflava* gibi

diğer cinslerden veya bazen seçici kültür ortamında bile üreyebilen ve özellikle farinkste ve aynı zamanda diğer bölgelerde bulunabilen diğer cinslerden ayırt eder. Kültürde üremiş izolatlardan DNA ekstraksiyonu da şu anda genomik analiz için DNA elde etmek için en iyi yöntemdir (43).

NAAT'ler şu anda çoğu yüksek gelirli ülkede gonore tanısı için tavsiye edilmektedir. NAAT'ler artık tercih edilen tanı testidir çünkü numune toplama invaziv değildir (idrar veya kendi kendine alınan, özellikle vajinal sürüntüler). Tespit için canlı organizmalar gerekli değildir, daha kolay taşıma ve depolama yöntemlerine izin verir. Çoğu, kültürle karşılaştırıldığında yüksek özgüllük ve duyarlılığa sahiptir; daha hızlı sonuçlar verirler ve birçoğu aynı anda diğer CYBE ile ilişkili patojenleri tespit edebilir. Laboratuvar tasarımı NAAT'ler genellikle *porA* psödogeni, *opa* genleri, *gyrA*, *cppB* ve *N. gonorrhoeae*'nin metiltransferaz genleri gibi genlerin korunmuş bölgelerini hedefler. Yüksek gelirli ülkelerde, laboratuvar tasarımı NAAT'ler büyük ölçüde Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi'nden onay almış ticari NAAT'lerle değiştirilmiştir (43).

2.3. *Trichomonas vaginalis*

2.3.1. Genel Bilgiler

Trichomonas vaginalis (*T. vaginalis*), anaerobik, kamçılı bir protozoan parazit ve trikomoniyazın etkenidir. Sadece insanlarda yaşar ve ürogenital sistemde bulunur (50).

Dünya çapında, trikomoniyaz vaka sayısı dört yüz milyona yaklaşmakta ve onu en sık görülen viral olmayan CYBE haline getirmektedir. Enfeksiyonun yüksek prevalansına rağmen, trikomoniyaz ihmal edilen bulaşıcı bir hastalık olarak sınıflandırılmaktadır (51).

2.3.2. Sınıflandırılması

T. vaginalis, *Trichomonadea* sınıfı ve *Trichomonadida* takımında bir protozoandır (52).

2.3.3. Mikrobiyolojik Özellikleri

T. vaginalis'in yaşam döngüsünde sadece trofozoit formu görülür ve kistik formu yoktur (52). Trofozoit şekli 10-25 mikron boyunda, 5-15 mikron eninde olan parazit armut şeklindedir. Geniş kısmında ortada kese şeklinde nükleusu bulunur. Nükleus üzerindeki kromatin taneciklerine blefaroplast adı verilir. Her kromatin tanesinden kamçı adı verilen dört adet uzantı serbest halde salınır, beşinci kamçı parazitin membranı boyunca aşağı doğru sarkarken membran ile arasında bağlar oluşur ve dalgalı zarı oluşturur (53). Organizma boyunca uzanan ve distal uçtan sonra da uzamaya devam eden bir aksostil mevcuttur (54). Parazit 8-12 saatte bir ikiye bölünerek çoğalır (55).

Parazit konakçı dışında idrar, meni ve yüzme havuzu suyunda 6-24 saat hayatta kalabilir ancak havaya maruz kaldığında sadece 30 dakikaya kadar canlılığını sürdürebilir. *T. vaginalis*, çok çeşitli pH değerlerinde yaşayabilir ancak optimum aralık pH 6-6,3 arasındadır (55).

2.3.4. Antijenik Özellikleri

Epitel hücrelerine adezyon patogeneizde kritiktir. Konak hücreye adherens parazitin kolonizasyonu ve kalıcı olmasında önemlidir. Trikomonasların hücre yüzey protein ve glikoproteinleri adezyonda önemlidir (53). *T. vaginalis*'in eritrosit veya ürogenital epitele yapışması, konak hücre iskeletinin bozulmasını tetikler, bu da sitolize yol açar. Lipofosfoglikan (LPG), *T. vaginalis*'teki majör adherens faktörüdür, ancak moleküler çalışmalar, fibronektin binding protein, laminin binding protein, aktinin, enolaz, fosfoglukomutaz gibi birçok proteinin adherenste görev aldığını göstermiştir (55).

T. vaginalis çok sayıda lizozomal kaynaklı sistein proteinaz aktivitesine sahiptir. Sistein proteinazlar epitel hücrelerine adherenste, eritrositlerin

hemolizinde rol almaktadır (53). Sistein proteinazlar ayrıca parazitin konağın immün sistemine karşı koyması için IgG ve IgA antikorlarını parçalamasında rol almaktadır. Bu sistein proteazların sentezi ve proteolitik aktivitesi, demir, pH, sıcaklık gibi çevresel faktörler ile düzenlenir (56).

T. vaginalis hedef hücrenin plazma membranını sitotoksik etkiyle harap etmektedir. Sitotoksik moleküllerden eritrosit membranında por oluşturan moleküller bunlardan biridir. *T. vaginalis* tarafından salınan fosfolipaz A2 çekirdekli hücreleri ve eritrositleri parçalamaktadır (53).

T. vaginalis'in son zamanlarda eksozom benzeri mikroveziküller de salgıladığı ortaya çıkmıştır. *Trichomonas* eksozomları yaklaşık 50-100 nm çapındadır ve yapılan analizler, büyük bir çeşitlilikte protein ve RNA içerdiklerini göstermiştir. Şu anda yalnızca bir suşun (B7RC2) eksozom proteomu mevcut olmasına rağmen, yüksek bulaşıcı bir suşun eksozomlarının, daha az adezyon kabiliyeti olan bir suşun bağlanma yeteneğini arttırdığı gösterilmiştir (56).

2.3.5. Epidemiyolojisi

T. vaginalis enfeksiyonu için anlamlı epidemiyolojik verilerin toplanması, trikomoniyazın şu anda gelişmiş veya gelişmekte olan ülkelerde raporlanan bir enfeksiyon olmaması nedeniyle zordur (57).

Dünya çapında, her yıl tahmini 250 milyon *Trichomonas* enfeksiyon vakası vardır ve %4,5'lik bir prevalansa sahiptir. Prevalansın, kadınlarda (% 8) erkeklerden (%1) daha yüksek olduğu tahmin edilmektedir. Kadınlarda hormonların *Trichomonas* enfeksiyonunda ve kalıcılığında büyük rol oynayabileceği öne sürülmektedir. Trikomoniyaz insidansı, incelenen nüfusa bağlı olarak, çeşitli çalışmalarda %5 ila %60 arasında değişmektedir. Düşük sosyoekonomik durum, çok sayıda cinsel partner olması ve düşük kişisel hijyen gibi faktörler, daha yüksek bir enfeksiyon insidansı ile ilişkilidir (52).

Yüksek riskli popülasyonlarda, cinsel yolla bulaşan hastalık ve aile planlaması kliniğinde erkekler ve kadınlar arasında prevalans %10,6 olarak bulunmuştur. Ayrıca *T. vaginalis* ile ilişkili ırk/etnik eşitsizlikler de vardır (58).

NAAT'leri kullanarak CYBE riski taşıyan ABD'li erkekleri taramak için yapılan araştırmalar, *T. vaginalis* prevalansını % 4-10 olarak bildirmiştir. Kadınlarda olduğu gibi, erkeklerde de prevalansın artan yaşla birlikte arttığı bildirilmiştir. Doğrulanmış *T. vaginalis* enfeksiyonu olan kadınların erkek cinsel partnerleri incelendiğinde, erkeklerde taşıyıcılık genellikle kendi kendini sınırlasa da, %70'e varan oranlarda *T. vaginalis* tespit edilebildiği bildirilmiştir (60).

2.3.6. Klinik

T. vaginalis inkübasyon dönemi 4-28 gün arasında olup erkeklerde genelde üretra, epididim veya prostata yerleştiğinden, hastada üretrit, prostatit veya epididimit belirtileri görülür (53). Erkeklerde enfeksiyonlar genellikle asemptomatiktir (57). Semptomatik erkeklerde en yaygın şikayetler az, berrak ya da mukopürülan akıntı, dizüri ve orta şiddette kaşıntı, hemen cinsel ilişki sonrasında görülen yanma hissidir. Prostatit, epididimit, üretrit, infertilite komplikasyonlarına neden olabilmektedir (53).

Asemptomatik enfeksiyon oranının yüksek olması trikomoniyaz tanısında, tedavisinde ve enfeksiyon oranlarının belirlenmesinde zorluklar oluşturmaktadır (59). Azitromisin veya doksisisiklin gibi genel üretrit tedavisi için verilen antibiyotikler trikomoniyaz için etkili tedaviler olmadığından, trikomoniyazın doğru tanısı enfeksiyonun tedavisi için önemlidir (57).

2.3.7. *Trichomonas vaginalis*'in Laboratuvar Tanısı

Örnek Alınması ve Transportu

İnceleme materyali olarak vajinal ve üretral sekresyon, sitoloji, prostat sıvısı ve idrar örnekleri kullanılabilir. Tanıda direkt mikroskopi, boyama yöntemleri, kültür, seroloji ve moleküler yöntemler kullanılmaktadır (57).

Tanıda kullanılan testler arasında vajinal pH testi, direkt mikroskopik inceleme ve NAAT'ler yer alır. NAAT'ler tüm hastalar için kullanılabilir veya ilgili

semptomları ve/veya vajinal akıntısı olan ancak mikroskopi sonuçları negatif olan hastalar gibi seçici olarak kullanılabilir (60).

Mikroskopi

Armut şeklindeki trikomonadların karakteristik yuvarlanan hareketlerinin görülmesi, *T. vaginalis* için %100 spesifik olarak kabul edilir. Örnek toplama ve mikroskopik inceleme arasındaki 10-30 dakika kadar kısa gecikmeler, testin duyarlılığını önemli ölçüde azaltabilir. Ek olarak, özellikle 22°C'nin altındaki sıcaklıklar olmak üzere, optimal olmayan numune saklama veya taşıma koşulları, parazit hareketliliğini ve dolayısıyla direkt mikroskopik inceleme duyarlılığını daha da azaltır (61).

Kültür

Klinik örneklerden alınan *T. vaginalis* kültürü, uzun süredir bu organizmanın tanısı için altın standart olarak kabul edilmektedir (57). Sıvı kültürde *T. vaginalis*'in çoğaltılması, doğrudan mikroskopik incelemeye göre daha yüksek bir duyarlılık sağlar. Erkeklerden (üretral sürüntüler veya idrar) alınan örnekler, toplandıktan sonra 1 saatten daha kısa bir süre içinde kültür ortamına hemen inoküle edilmelidir. Kültürler 37°C'de inkübe edilir ve hareketli trikomonadlar gözlemlenene kadar beş güne kadar her gün mikroskopik olarak incelenir (61).

Yüksek duyarlılığa sahip NAAT'ler ile karşılaştırıldığında, erkeklerde, *T. vaginalis*'in saptanması için kültürün duyarlılığı %40-56 arasında değişmektedir. Erkeklerden alınan idrar, kültür için üretral sürüntü örneğinden daha duyarlıdır (61).

Nükleik Asit Tespiti

NAAT'ler, yüksek duyarlılığa sahip oldukları ve direkt mikroskopiden üç ila beş kat daha fazla enfeksiyon tespit edebildikleri için *T. vaginalis* için Hastalık

Kontrol ve Koruma Merkezi (CDC) tarafından önerilen tanı yöntemidir. Kadınlar için vajinal, idrar veya endoservikal olarak toplanan numuneler ve erkekler için de ilk akım idrarından çalışılmak üzere bir adet Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi onaylı ticari test bulunmaktadır (58,62).

NAAT'ler, mikroskopi (vajinal akıntı) veya kültür (vajinal veya penil sekresyonlar) ile karşılaştırıldığında yüksek duyarlılık ve özgüllük (her ikisi de %100'e yaklaşan) nedeniyle tüm hastalarda *T. vaginalis* enfeksiyonunun tanısında tercih edilir. Tüm ticari NAAT'ler erkek hastalarda kullanım için onaylanmamıştır bu nedenle erkeklerde testlerin kullanılabilirliği açısından laboratuvarlarla konuşulmalıdır. Bu testlerin mikroskopi ile karşılaştırıldığında sınırlamaları arasında daha uzun sürmesi ve daha yüksek maliyet bulunur (60).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından, 10.11.2021 tarihinde, KAEK-798 sayılı kararla onaylanmıştır.

Bu çalışmaya Şubat 2023-Ağustos 2023 tarihleri arasında, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, Sağlık Bilimleri Üniversitesi Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi ve Özel OFM Antalya Hastanesi üroloji polikliniklerine üretrit yakınmalarıyla başvurmuş 94 erkek hasta dahil edilmiştir.

Hastalardan ilk akım idrarı ve üretral sürüntü örneği alınmıştır. İlk akım idrarından multipleks PZR yöntemiyle *M. hominis*, *M. genitalium*, *U. urealyticum*, *U. parvum* DNA'sı, direkt mikroskopi ve kültür yöntemleriyle *T. vaginalis*; üretral sürüntüden Gram boyalı mikroskopi ve kültür yöntemleriyle *N. gonorrhoeae* araştırılmıştır.

3.1. Gereçler ve Ekipman

Plastik ve cam malzemeler:

- Tek kullanımlık eldivenler
- Steril idrar kabı
- Transystem™ 114C kömürlü Amies agar jelli normal rayon swab (Copan Diagnostics, ABD)
- Otomatik pipetler
- 10µl, 100µl ve 1000µl'lik filtreli ve filtresiz pipet uçları
- DNAase-RNAase içermeyen eppendorf tüpleri
- Vidalı kapaklı cam tüp
- Lam
- Lamel

Ekipman:

- Santrifüj (Eppendorf Centrifuge 5804 R)
- PZR çalışılmasında kullanılmak üzere üç adet ayarlanabilir mikropipet (1-20 µl, 20-200 µl ve 200-1000 µl) (Eppendorf, Almanya).
- Vorteks (VF 2500 devir/dakika)
- +4°C, -20°C ve -80°C soğutucular
- x10, x40 ve x100'lük objektifleri olan ışık mikroskopi (Olympus, Model CX41RF)

3.2. Yöntem

3.2.1. Üretrit Semptomları Olan Hastaların Seçilmesi

Hasta seçiminde genital akıntı, kaşıntı, idrar yaparken yanma, ağrı, peniste kızarıklık gibi genel üretrit semptomları göz önüne alındı. Hastalardan öncelikle aydınlatılmış onamları alındı. Daha sonra hastalara 25 sorudan oluşan hasta izlem formu (Form 1) verildi ve sorulara cevap vermeleri istendi. Hastaların demografik bilgileri, sosyoekonomik durumları, cinsel aktivite durumları, cinsel partner sayıları, semptomları vb değerlendirildi.

HASTA İZLEM FORMU

- 1) Yaş: Boy: Kilo:

2) Eğitim Durumu: a)İlkokul b)Lise c)Üniversite

3) Medeni Durumu: a)Evli b)Bekar

4) Mesleğiniz:

5) Aylık gelir durumunuz: a) Asgari ücret b) Asgari ücretten yüksekse miktar:

6) Cinsel tercih: a)Kendi cinsiniz b)Karşı cins

7) Şu ana kadar kaç kişiyle birlikte oldunuz?: a)1-3 b)4-6 c)7-9 d)10 ve üzeri

8) Son 6 ay içinde cinsel ilişkiye girdiniz mi?: a)Evet b)Hayır

9) Son 12 ay içindeki cinsel partner sayısı: a)1 b)2-3 c)4-5 d) 6 ve üzeri

10) Son 3 ay içinde yeni bir cinsel partner oldu mu?: a)Evet b)Hayır

11) Ne sıklıkla cinsel ilişkiye girersiniz?: a)Her gün b)Haftada 3-4 c)Haftada 1 d)Haftada 1den daha az

12) Daha önceden tanı koyulmuş HIV ya da başka cinsel yolla bulaşan hastalığınız var mı? a)Evet b)Hayır

13) Daha önce bel soğukluğu veya genital akıntı, siğil gibi bir hastalığınız oldu mu?: a)Evet b)Hayır

14) Yukardaki şikayetleri olan biriyle beraber oldunuz mu?: a)Evet b)Hayır

15) İlk cinsel ilişki yaşı: a)18 yaşından küçükken b)18-25 c)26-34 d)35-44

16) Seks işçisi biriyle birlikte oldunuz mu?: a)Evet b)Hayır

17) Cinsel ilişki sırasında kondom kullanır mısınız?: a)Evet b)Hayır

18) Genital akıntınız var mı?: a)Evet b)Hayır

19) Genital kaşıntınız var mı?: a)Evet b)Hayır

20) Cinsel ilişki sırasında ağrı-rahatsızlık hissiniz var mı?: a)Evet b)Hayır

21) İdrar yaparken ağrı-rahatsızlık hissiniz var mı?: a)Evet b)Hayır

22) Kalça bölgenizde ağrı-rahatsızlık hissi var mı?: a)Evet b)Hayır

23) Testis ağrınız var mı?: a)Evet b)Hayır

24) Testislerinizde şişlik var mı?: a)Evet b)Hayır

25) Penis ya da testislerinizde kızarıklık var mı?: a)Evet b)Hayır

Şekil 3.1. Hasta İzlem Formu

3.2.2. Hastalardan İdrar Örneği Alınması

Hastalara steril idrar kapları verildi ve ilk akım idrarlarını bu kabın içine yapmaları söylendi. Daha sonra hastalardan bu idrar kapları alındı ve test çalışılması için laboratuvara ulaştırıldı.

3.2.3. Hastalardan Sürüntü Örneği Alınması

Uyum ve hasta rahatlığı açısından hastalardan kendi kendilerine aldıkları üretral sürüntü örnekleri toplandı. Hastalara swablar (Copan Diagnostics, ABD) verildi. Üretranın ucundan 2-4 cm kadar içeri nazikçe sokup döndürmeleri ve 1-2 saniye absorbsiyon için bekleyerek örnek alımı yapmaları gerektiği anlatıldı. Swabı taşıma besiyeri içeren tüpe yerleştirerek getirmeleri söylendi.

3.2.4. İdrar Örneğinin Çalışma İçin Hazırlanması

1. Hastalardan steril idrar kabına alınan ilk akım idrarı hemen laboratuvara getirildi.
2. İdrar örneği Diamond's TYM besiyerine ekilerek *T. vaginalis* için kültür yapıldı.
3. Multipleks PZR çalışılmak üzere 3-4 ml örnek alikotlandı ve -20°C'ye çalışılana kadar kaldırıldı.

3.2.5. İdrar Örneğinin Direkt Mikroskopik İncelenmesi

1. Örnek 500xg'de 10 dakika santrifüj edildi, üst kısmı döküldü.
2. Sediment pipet yardımıyla karıştırıldı ve aspire edildi.
3. Mikroskop lamı üzerine bir damla sediment koyuldu.
4. Üzerine lamel kapatıldı.
5. Işık mikroskopunda x10 ve x40'lık objektifte incelendi.
6. *T. vaginalis* trofozoitleri araştırıldı (63).

3.2.6. Sürüntü Örneğinin Çalışılması

Sürüntü örneğinden *N. gonorrhoeae* için öncelikle Modifiye Martin-Lewis agara ekim sonrasında mikroskopik inceleme için lama yayma yapıldı.

3.2.7. Gram Boyama

Lama yayılan üretral sürüntü örneği havada kurumaya bırakıldı. Daha sonra kurumuş lam üzerine metanol damlatıldı. 1 dakika beklenip lam eğilerek herhangi bir yıkama yapmaksızın metanol lamın üzerinden uzaklaştırıldı, havada kurumaya bırakıldı. Boyanmaya hazır, sabitlenmiş lam bir boya standına yerleştirildi.

Kristal viyole solüsyonu lam üzerine döküldü; 30 sn beklendi. Kristal viyole akıtıldı ve lam çeşme suyu ile nazikçe yıkandı. İyodin solüsyonuyla lam kaplandı; 30 sn beklendi ve lam çeşme suyu ile nazikçe yıkandı. Renk giderme işleminde renk giderici aseton-alkol hafifçe yayma üzerine akıtıldı ve rengin açıldığı görülür görülmez uygulama durduruldu (1-5 saniye). Renk gidericinin fazlası da nazik bir şekilde çeşme suyu ile yıkandı. Safranin ile lamın üzeri kaplandı; 30 sn beklendi. Safranin de çok yumuşak akan çeşme suyu ile yıkandı. Lam üzerindeki su iyice süzdürüldü ve dik konumda havada kurutuldu. Mikroskopta incelendi (64).

3.2.8. *Neisseria gonorrhoeae* Kültürü

N. gonorrhoeae kültürü için alınan sürüntü örnekleri vakit kaybetmeden hazır olarak temin edilmiş olan Modifiye Martin-Lewis agara (Becton Dickenson and Company, Franklin lakes, NJ) ekildi. Modifiye Martin-Lewis agar karışık bakteri ve mantar florası içeren klinik örneklerden *N. gonorrhoeae* ve *N. meningitidis*'in seçici izolasyonu için zenginleştirilmiş bir besiyeridir. Modifiye Martin-Lewis agar Gram pozitif bakteriler ve mayalar için Thayer Martin agardan daha inhibitör ve

patojenik *Neisseria*'ların (*N. gonorrhoeae* ve *N. meningitidis*) seçici izolasyonu için önceki formülasyonun bir modifikasyonudur. BD Modifiye Martin-Lewis agarda, *Candida albicans*'ın inhibisyonunu artırmak için anisomisin veya daha önceden kullanılan nistatin yerine amfoterisin B kullanılır. Bu organizmanın *N. gonorrhoeae*'yi inhibe ettiği bilinmektedir.

BD Modifiye Martin-Lewis agar'da modifiye edilmiş besinler, nitrojen kaynakları olarak kazein ve et peptonları, pH'ı korumak için fosfatlar ve agarda bulunabilecek toksik yağ asitlerini nötralize etmek için mısır nişastası içeren Chocolate II Agar besiyerinden sağlanır. Hemogloblin X faktörü (hemin) sağlar. BD IsoVitaleX Enrichment V faktörü (nikotinamid adenin dinükleotid, NAD) ve vitaminler, aminoasitler, koenzimler, glikoz, ferrik iyonu ve patojenik *Neisseria* gelişimini artıran diğer faktörleri sağlayan tanımlanmış bir destektir.

Bu besiyeri normal floranın baskılanması için çeşitli antimikrobiyal ajanlar içerir. Vankomisin birincil olarak Gram pozitif bakterilere karşı etkindir. Kolistin *Pseudomonas* türlerini içeren Gram negatif basillere karşı etkindir fakat *Proteus* türlerine karşı etkin değildir. Trimetoprim *Proteus*'u inhibe eder. Amfoterisin B mantarları inhibe eder.

N. gonorrhoeae ve *N. meningitidis* olumsuz ortam koşullarına duyarlıdır. Bu sebeple, patojenik *Neisseria* içerdiğinden şüphelenilen bütün örnekler için uygun bir taşıma besiyeri kullanılmalıdır. Örnekler olabildiğince kısa sürede laboratuvara gönderilmelidir ve taşıma besiyeri kullanılsa bile 24 saatten eski olmamalıdır. Optimum aktarım sıcaklığı 20-25°C'dir. Buzdolabına konulmamalıdır.

Tablo 3.1. Modifiye Martin-Lewis agar besiyeri içeriği (Becton Dickenson and Company, Franklin lakes, NJ)

BD Martin-Lewis agar, Modifiye	
Kazeinin Pankreatik Dijesti	7,5 g
Et Peptonu	7,5
Mısır Nişastası	1,0
Dipotasyum Fosfat	4,0
Monopotasyum Fosfat	1,0
Sodyum Klorür	5,0
Agar	14,0
Hemoglobin	10,0
IsoVitaleX Enrichment	10,0 mL
Trimetoprim laktat	0,005 g
Amfoterisin B	0,005
Kolistin	0,0075
Vankomisin	0,004
pH 7,2 ± 0,2	

BD IsoVitaleX Enrichment	
Vitamin B12	0,01 g
L-Glutamin	10,0
Adenin	1,0
Guanin Hidroklorür	0,03
p-Aminobenzoik Asit	0,013
Nikotinamid Adenin Dinükleotid	0,25
Tiyamin Pirofosfat	0,1
Ferrik Nitrat	0,02
Tiyamin Hidroklorür	0,003
Sistin Hidroklorür	25,9
L-Sistin	1,1
Glikoz	100,0

3.2.9. *Trichomonas vaginalis* Kültürü

İlk akım idrar örneğinden *T. vaginalis* kültürü yapmak amacıyla Diamond's TYM besiyeri kullanıldı. Besiyeri laboratuvar ortamında aşağıda açıklandığı şekliyle hazırlandı ve uygun koşullarda muhafaza edildi.

Tablo 3.2. Diamond's TYM besiyeri içeriği

Trypticase	20,0 g
Yeast extract	10,0 g
Maltose	5,0 g
L-Sistein HCL	1,0 g
L-Askorbik asit	0,2 g
Potasyum fosfat, monobazik (KH_2PO_4)	0,8 g
Potasyum fosfat, dibazik (K_2HPO_4)	0,8 g
Bacto agar	0,5 g
Damıtık su	900,0 ml

- Damıtık su içinde buffer tuzları manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı.
- Agar hariç diğer maddeler sırasıyla birer birer kondu, karıştırarak iyice çözümleri sağlandı. Karışımın bir N HCL ile pH'sı 6,0'a ayarlandı.
- Agar ekledikten sonra ısıtıldı, çözünmesi sağlandı. 121°C'de 15 dk otoklavlandı.
- 45°C'ye kadar soğuduğunda 56°C'de 30 dakika inaktive edilmiş 100 ml steril serum (sığır, koyun veya at) aseptik olarak eklendi ve 10'ar ml vida kapaklı tüplere dağıtıldı.
- TYM besiyeri olarak etiketlendi ve tarih atıldı.
- 4 °C'de üç hafta kullanılabilecek kadar saklandı.

Antibiyotik karışımı

Sodyum Penicilin G 1.000.000 U

Amphotericin B 2 mg

Steril çift damıtık su 50 ml

a) Hepsi karıştırıldı ve 1'er ml'lik alikotlara bölündü.

b) Her iki ml besiyerine 0,1 ml olacak şekilde tüplere dağıtıldı (65).

3.2.10. Multipleks PZR Kiti

Çalışmamızda *Mycoplasma genitalium* (MgPa operon geni), *Mycoplasma hominis* (gap geni), *Ureaplasma urealyticum* (UUR10_0680 geni), *Ureaplasma parvum* (UP063 geni) DNA varlığını kalitatif olarak tespit eden ve BD MAX sisteminde çalışılan BioGX *Mycoplasma-Ureaplasma* ticari multipleks PZR kiti (BioGX, Amsterdam, Hollanda) kullanılmıştır. Servikal örnek, vaginal swab, idrar, borik asitle korunmuş idrar örnekleri çalışma için önerilen örneklerdir.

Çalışma BD MAX sisteminde yapılmıştır (Şekil 3.2). BD MAXTM otomatik nükleik asit ekstraksiyonu (BD MAXTM ExKTM DNA-1 ekstraksiyon stripi (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ)) ve BioGX *Mycoplasma-Ureaplasma* ticari multipleks PZR kiti kullanılmıştır. BD MAXTM ekstraksiyon reaktifi, bir Sample Processing Control (SPC) (Örnek İşleme Kontrol) DNA'sı içerir. Bu SPC, numuneden nükleik asitlerin ekstraksiyonu için internal amplifikasyon kontrolü olarak hizmet eder. Kullanıcı tarafından harici SPC eklenmesi gerekmez.



Şekil 3.2. BD MAX™ otomatik nükleik asit ekstraksiyonu ve gerçek zamanlı PZR cihazı

Multipleks PZR kiti bir numunenin gerçek zamanlı PZR testi için gerekli olan primerler, proplar, enzimler, dNTP'ler, $MgCl_2$ ve tamponlar gibi tüm PZR bileşenlerini içerir. Amplifiye edilmiş DNA hedefleri, bir uçta bir fluoresan raportör florokrom (florofor) ile işaretlenmiş, diğer uçta da bir baskılayıcı florokrom ile işaretlenmiş hidroliz proplar kullanılarak tespit edilir. Farklı floroforlarla işaretlenmiş proplar, BD MAX™ Sistemi'nin beş farklı optik kanalında spesifik amplikonları saptamak için kullanılır (*M. genitalium*, *U. urealyticum*, *M. hominis*, *U. parvum* amplikonları, örnek işleme kontrolü).

Örnekler üretici firmanın önerileri doğrultusunda cihaza yüklendi ve çalışma bitiminde sonuçlar yine üretici firmanın önerileri doğrultusunda değerlendirildi. BD MAX™ System yazılımı, test sonucunu otomatik olarak yorumlar. Pozitif ve negatif kontroller beklendiği şekilde sonuçlanmış olmalıdır. Bir veya daha fazla hedefin varlığı mümkündür.

3.3. İstatistiksel Değerlendirme

İstatistiksel analizler SPSS 23.0 versiyonu kullanılarak yapıldı. Hastalara ait özellikler ve laboratuvar inceleme sonuçları tanımlayıcı istatistiklerle analiz edildi. Kategorik veriler sayı (n) ve yüzdelik (%) olarak hesaplandı. Numerik verilerde ortalama ve standart sapmalar belirlendi. Gruplar arası karşılaştırmalar; kategorik verilerde ki-kare testi veya Fisher's exact testi (hangisi uygun ise), numerik verilerde Student-T testi ile yapıldı. p değeri <0,05 ise istatistiksel anlamlı olarak kabul edildi.



4. BULGULAR

4.1. Hastaların Demografik Verileri, Cinsel Davranış Özellikleri ve Semptomları

Çalışmaya toplam 94 hasta dahil edildi. Hastaların yaş ortalaması 33,01 (aralık: 17-72) yaş, boy ortalaması 177,65 (aralık: 160-203) cm, kilo ortalaması 79,3 (aralık: 53-120) kg olarak saptandı. Vücut kitle indeksi ortalaması ise 25,14 (aralık: 16-37) olarak hesaplandı.

Çalışmaya dahil edilen hastaların %29'u evli, %71'i ise bekardı. Hastaların %90,3'ü son altı ay içinde cinsel ilişkiye girdiklerini, %53,8'i son üç ay içinde yeni bir cinsel partneri olduğunu bildirdi. Şu ana kadar hayatları boyunca kaç kişi ile birlikte olduğu sorusuna %50'si 10'dan fazla kişi ile birlikte olduğu yanıtını verdi. Hastaların %12,9'unda daha önceden tanı koyulmuş HIV ya da başka cinsel yolla bulaşan hastalık, %37,6'sında daha önce bel soğukluğu veya genital akıntı, siğil gibi bir hastalık hikayesi vardı. Bel soğukluğu, genital akıntı, siğil gibi şikayet ya da hastalığı olan biriyle birlikte olup olmadıkları sorusuna hastaların %13,3'ü; seks işçisi biriyle birlikte olup olmadıkları sorusuna hastaların %33,3'ü "Evet" yanıtını verdi. Cinsel ilişki sırasında kondom kullanımı sorgulandığında %42,7'si kondom kullandığını belirtti.

Semptomlar sorgulandığında hastaların %53,8'i genital akıntı, %47,8'i genital kaşıntı, %30'u cinsel ilişki sırasında ağrı-rahatsızlık hissi, %71'i idrar yaparken ağrı-rahatsızlık hissi, %19,4'ü kalça bölgesinde ağrı-rahatsızlık hissi, %39,8'i testislerde ağrı, %13'ü testislerde şişlik, %24,7'si penis ya da testislerde kızarıklık olduğunu bildirdi. Hastaların demografik verileri, cinsel davranış özellikleri ve semptomları ile ilgili sonuçlar Tablo 4.1 ve Tablo 4.2'de gösterildi.

Tablo 4.1. Hastaların demografik verileri, cinsel davranış özellikleri

Özellikler	Sayı (n)	Yüzde (%)
Yaş		
18-25	28	30,8
26-34	28	30,8
35-44	20	22
>44	15	16,4
Eğitim Durumu		
İlkokul	18	20,5
Lise	28	31,8
Üniversite	42	47,7
Medeni Durumu		
Evli	27	29
Bekar	66	71
Aylık gelir durumu		
Asgari ücretten az	1	1,2
Asgari ücret	34	41,5
Asgari ücretten fazla	47	57,3
Şu ana kadar birlikte olduğu toplam kişi sayısı		
1-3	28	31,8
4-6	13	14,8
7-9	3	3,4
10 ve üzeri	44	50
Son 6 ay içinde cinsel ilişkiye girme durumu		
Evet	84	90,3
Hayır	9	9,7
Son 12 ay içindeki cinsel partner sayısı		
0	2	2,2
1	31	34,4
2-3	30	33,3
4-5	7	7,8
6 ve üzeri	20	22,2
Son 3 ay içinde yeni bir cinsel partner varlığı		
Evet	50	53,8
Hayır	43	46,2
Cinsel ilişki sıklığı		
Her gün	3	3,3
Haftada 3-4	23	25,6
Haftada 1	31	34,4
Haftada 1'den daha az	33	36,7
Daha önceden tanı koyulmuş HIV ya da başka cinsel yolla bulaşan hastalık öyküsü		
Evet	12	12,9
Hayır	81	87,1
Daha önce bel soğukluğu veya genital akıntı, siğil gibi bir hastalık öyküsü		
Evet	35	37,6
Hayır	58	62,4
Benzer şikayetleri olan biriyle cinsel ilişki öyküsü		
Evet	12	13,3
Hayır	78	86,7
İlk cinsel ilişki yaşı		
18 yaşından küçükken	40	43,5
18-25	46	50
26-34	5	5,4
35-44	1	1,1
Seks işçisi biriyle birlikte olma öyküsü		
Evet	31	33,3
Hayır	62	66,7
Cinsel ilişki sırasında kondom kullanımı		
Evet	38	42,7
Hayır	51	57,3

Tablo 4.2. Hastaların semptomları

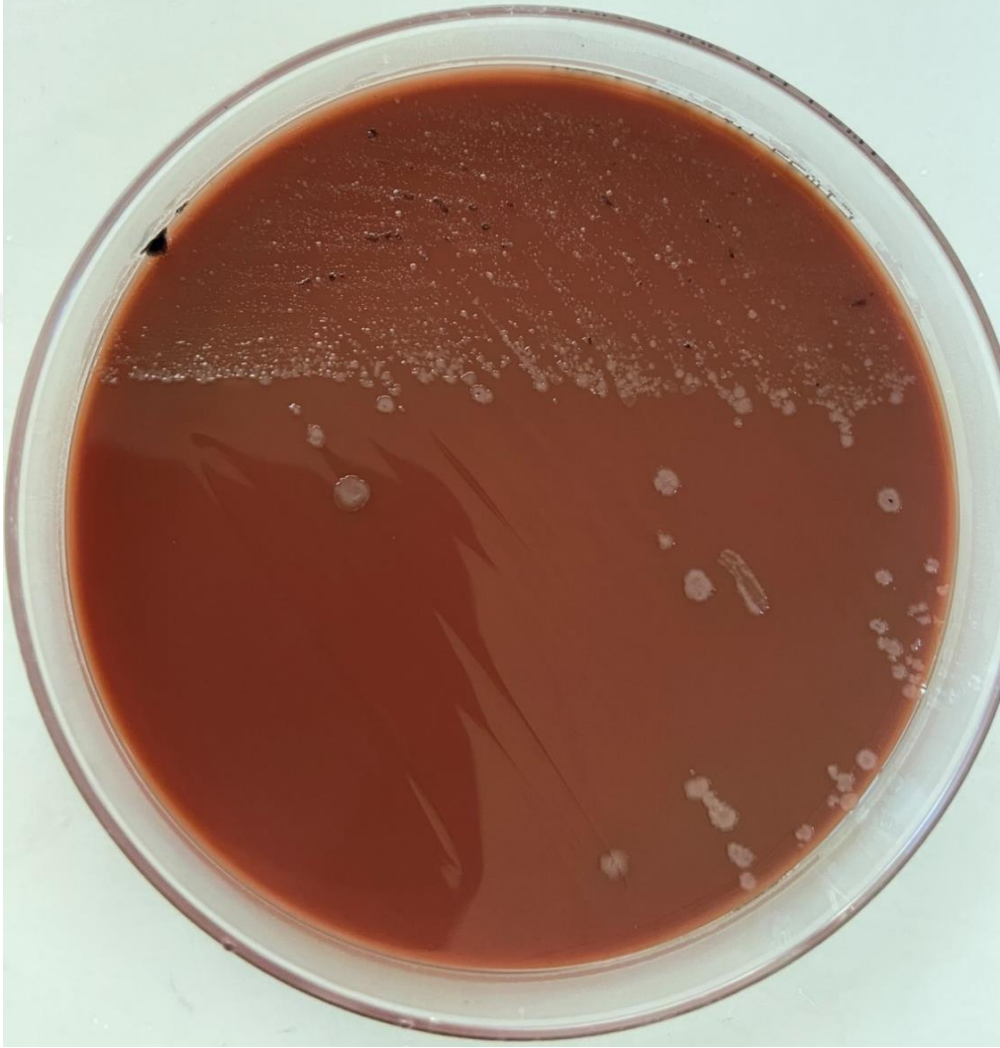
Semptomlar	Sayı (n)	Yüzde (%)
Genital akıntı		
Evet	50	53,8
Hayır	43	46,2
Genital kaşıntı		
Evet	44	47,8
Hayır	48	52,2
Cinsel ilişki sırasında ağrı-rahatsızlık hissi		
Evet	27	30
Hayır	63	70
İdrar yaparken ağrı-rahatsızlık hissi		
Evet	66	71
Hayır	27	29
Kalça bölgesinde ağrı-rahatsızlık hissi		
Evet	18	19,4
Hayır	75	80,6
Testis ağrısı		
Evet	37	39,8
Hayır	56	60,2
Testislerde şişlik		
Evet	12	13
Hayır	80	87
Penis ya da testislerde kızarıklık		
Evet	23	24,7
Hayır	70	75,3

4.2. Mikroskopi ve Kültür Sonuçları

Çalışmaya dahil edilen 94 hastanın üretral sürüntü örneklerinin Gram boyalı mikroskopik incelenmesinde, iki hastada (%2,1) PMNL ve Gram negatif diplokoklar gözlenirken, 92 hastada (%97,9) PMNL ve mikroorganizma saptanmadı. *T. vaginalis* araştırılması için yapılan direk mikroskopik incelemede tüm örnekler negatif olarak saptandı.

Modifiye Martin-Lewis agar'a yapılan kültürde dokuz hastada (%9,6) *N. gonorrhoeae* üredi (Şekil 4.1, Şekil 4.2). Besiyerinde üreyen şüpheli koloniler Gram boyası ile boyandı (Şekil 4.3). Tür tanımlanması "matrix-assisted laser

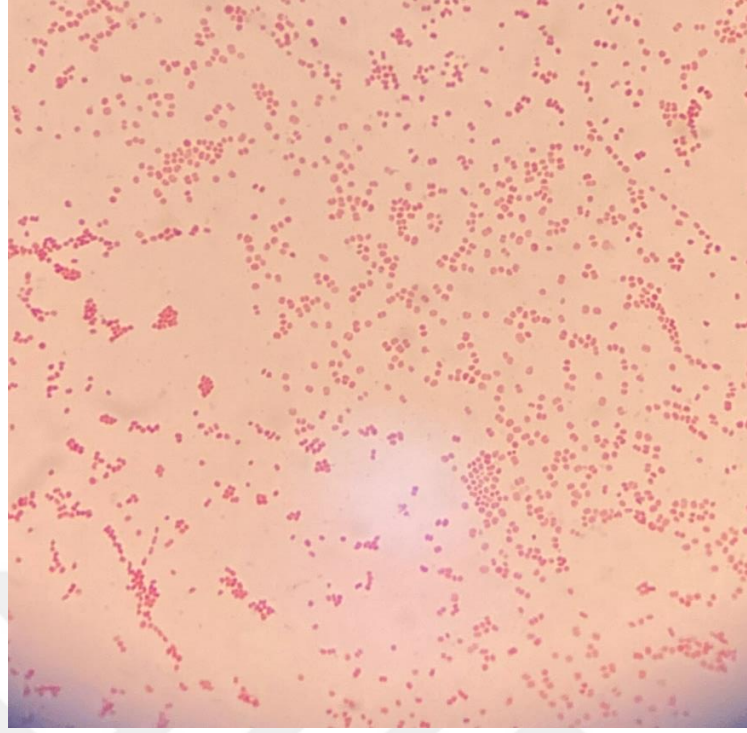
desorption/ionization time of flight (MALDI-TOF MS) (Bruker Daltonik GmbH, Bremen, Almanya) ile yapıldı. Diamond's TYM besiyerinde *T. vaginalis* üremesi saptanmadı.



Şekil 4.1. Modifiye Martin-Lewis agarda üremiş *N. gonorrhoeae* kolonileri



Şekil 4.2. Modifiye Martin-Lewis agarda üremiş *N. gonorrhoeae* kolonileri



Şekil 4.3. *N. gonorrhoeae* kolonilerinden yapılan Gram boyama (x100 objektif)

4.3. Multipleks PZR Sonuçları

Çalışmaya dahil edilen tüm hastaların multipleks PZR sonuçları değerlendirildiğinde 37 hastada (%39,4) toplamda 46 mikroorganizma tespit edildi. 28 hastada (%29,8) sadece bir mikroorganizma tespit edilirken, dokuz hastada (%9,6) miks enfeksiyonlar tespit edildi. Multipleks PZR ile tespit ettiğimiz miks enfeksiyonlar incelendiğinde *M. hominis* + *U. urealyticum* üç (%3,2), *M. hominis* + *U. parvum* iki (%2,1), *U. parvum* + *U. urealyticum* dört (%4,3) hastada tespit edildi. PZR ile en fazla tespit edilen miks enfeksiyon *U. parvum* + *U. urealyticum* birlikteliği oldu (Tablo 4.3). Elli yedi hastada (%60,6) herhangi bir mikroorganizma tespit edilmedi.

Tablo 4.3. Hasta örneklerinde uygulanan yöntemler ve sonuçları

Tarama Yöntemi	Hasta sayısı (n:94)
Mikroskopi	
Direk Mikroskobik İnceleme (İdrar)	-
Gram Boyalı Mikroskobik İnceleme (Genital Sürüntü)	2 (%2,1)
Kültür	
<i>Trichomonas</i> Kültürü	-
<i>N. gonorrhoeae</i> * Kültürü	9 (%9,6)
PZR	
<i>Mycoplasma hominis</i>	3 (%3,2)
<i>Mycoplasma genitalium</i>	6 (%6,4)
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	11 (%11,7)
<i>Ureaplasma parvum</i>	8 (%8,5)
Miks Enfeksiyonlar	
<i>M. hominis</i> + <i>U. urealyticum</i>	3 (%3,2)
<i>M. hominis</i> + <i>U. parvum</i>	2 (%2,1)
<i>U. parvum</i> + <i>U. urealyticum</i>	4 (%4,3)

**N. gonorrhoeae* üretilen 9 hastanın 7'sinde aynı zamanda PZR'de etken saptandı. Bu hastaların üç tanesinde tek başına *U. urealyticum*, iki tanesinde tek başına *M. genitalium* ve iki tanesinde de *U. urealyticum* ve *U. parvum* birlikteliği saptandı.

Multipleks PZR sonuçları ile ilgili örnekler şekillerde gösterildi (Şekil 4.4, Şekil 4.5, Şekil 4.6).

Channel ▾ Curve: Backgrounded PCR ▾

☒ Reader A ☐ Reader B

Position	Accession	Result
A7	HASTA 34	➔ Mgen NEG ➔ Uurea NEG ➔ Mhom NEG ➔ Uparv NEG
A8	HASTA 35	➔ Mgen NEG ➔ Uurea NEG ➔ Mhom NEG ➔ Uparv NEG
A9	HASTA 36	➔ Mgen NEG ➔ Uurea NEG ➔ Mhom NEG ➔ Uparv NEG
A10	HASTA 37	➕ Mgen POS ➔ Uurea NEG ➔ Mhom NEG ➔ Uparv NEG
A11	HASTA 38	➔ Mgen NEG ➔ Uurea NEG ➔ Mhom NEG ➔ Uparv NEG
A12	HASTA 39	➔ Mgen NEG ➕ Uurea POS ➔ Mhom NEG ➔ Uparv NEG

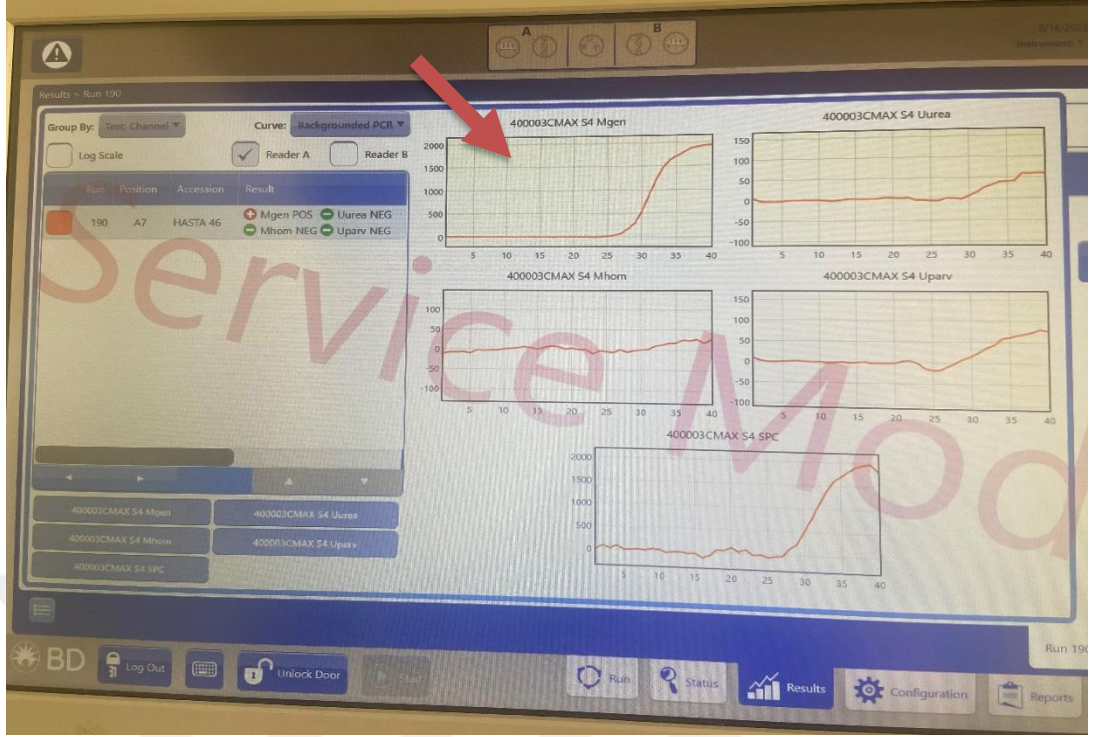
2000
1500
1000
500

4000001CMAX 54 1A7PM
4000001CMAX 54 1A7PM

Şekil 4.4. 34.-39. hastaların PZR sonuçları: 37. Hastada sadece *M. genitalium* pozitif, diğer mikroorganizmalar negatif, 39. hastada *U. urealyticum* pozitif, diğer mikroorganizmalar negatif, 34., 35., 36., 38. hastalar dört mikroorganizma açısından negatif



Şekil 4.5. Sonucu negatif olan bir hastanın beş optik kanalda tespit edilen floresan miktarlarının grafiği

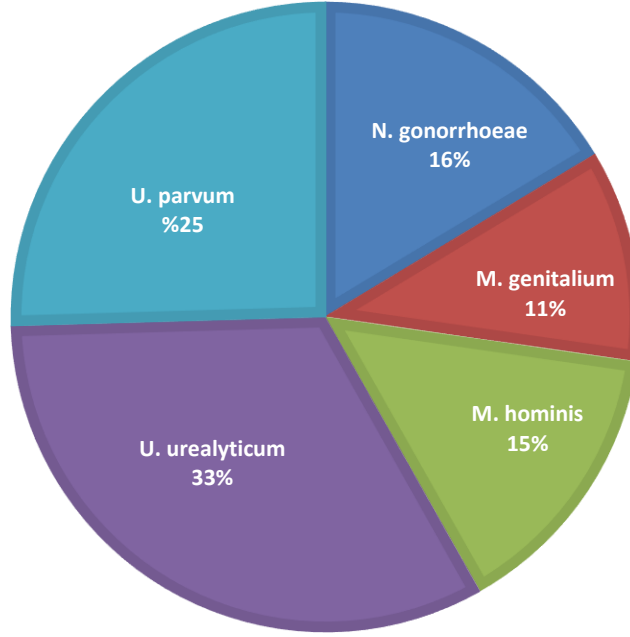


Şekil 4.6. *M. genitalium* pozitif saptanan bir hastanın beş optik kanalda tespit edilen floresan miktarlarının grafikleri (Okla gösterilen eğri *M. genitalium* kanalındır)

Tüm yöntemler kullanılarak 39 (%41,5) hastada toplam 55 mikroorganizma tespit edildi. Bunlardan 18'i (%33) *U. urealyticum*, 14'ü (%25) *U. parvum*, dokuzu (%16) *N. gonorrhoeae*, sekizi (%15) *M. hominis* ve altısı (%11) *M. genitalium* olarak saptandı (Şekil 4.7).

N. gonorrhoeae saptanan dokuz hastanın yedisinde aynı zamanda PZR ile en az bir mikroorganizma saptandı. Bu hastaların üç tanesinde tek başına *U. urealyticum*, iki tanesinde tek başına *M. genitalium* ve iki tanesinde de *U. urealyticum* ve *U. parvum* birlikteliği saptandı. Gram boyamasında PMNL ve Gram negatif diplokok görülen 2 hastanın multipleks PZR ile 1 tanesinde tek başına *M. genitalium* ve diğerinde de *U. urealyticum* ve *U. parvum* birlikteliği saptandı.

■ N. gonorrhoeae ■ M. genitalium ■ M. hominis ■ U. urealyticum ■ U. parvum



Şekil 4.7. Tespit edilen mikroorganizmaların dağılımı

Pozitif saptanan hastaların yaş ortalaması 30,66 (aralık: 17-72) yaş, negatif saptanan hastaların ise 34,7 (aralık: 17-69) yaş olarak bulundu. Herhangi bir mikroorganizma tespit edilen hastaların yaş gruplarına göre dağılımları değerlendirildiğinde, prevalansı en yüksek yaş grubu 26-34 yaş aralığı olarak saptandı (%41,8). *M. hominis* en fazla 18-25 yaş grubunda görülürken, *M. genitalium*, *U. urealyticum* ve *U. parvum* en fazla 26-34 yaş grubunda görüldü. *N. gonorrhoeae* ise en fazla 18-25 yaş grubunda görüldü (Tablo 4.4).

Tablo 4.4. Yaş gruplarına göre saptanan mikroorganizma sayıları

Yaş grupları	Mikroorganizma türü					
	<i>Mycoplasma genitalium</i>	<i>Mycoplasma hominis</i>	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	<i>Ureaplasma parvum</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Toplam
18-25	2	3	6	3	4	18 (%32,7)
26-34	4	2	7	7	3	23 (%41,8)
35-44	0	1	2	3	2	8 (%14,5)
>44	0	2	3	1	0	6 (%11)
Toplam	6	8	18	14	9	55 (%100)

Herhangi bir mikroorganizma tespit edilen hastalar ile mikroorganizma tespit edilmeyen hastalar cinsel davranış özellikleri ve semptomları açısından karşılaştırıldı. *M. genitalium* ve *N. gonorrhoeae* pozitifliği ile son 12 ay içindeki partner sayısının üçten fazla olması arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı ($p<0,05$). *U. urealyticum* ve *N. gonorrhoeae* pozitifliği ile hastalarda genital akıntı olması arasında anlamlı ilişki saptandı ($p<0,05$). Ayrıca genital kaşıntı ve cinsel ilişki sırasında ağrı rahatsızlık hissi olması ile *N. gonorrhoeae* pozitifliği arasında anlamlı ilişki saptandı ($p<0,05$). Hastaların cinsel davranış özellikleri ve semptomları ile mikroorganizma saptanması arasındaki ilişki Tablo 4.5'te gösterilmiştir.

Hastaların daha önceden tanı koyulmuş HIV ya da başka cinsel yolla bulaşan hastalık öyküsü sorgulandığında hastaların 12 tanesi bu soruya evet yanıtını verdi. Daha önceden tanı koyulmuş HIV ya da başka cinsel yolla bulaşan hastalık öyküsü olan hastaların sonuçları incelendiğinde bir hastada *U. urealyticum* ve *N. gonorrhoeae* birlikteliği, bir hastada *M. genitalium*, bir hastada *U. parvum* ve iki hastada da *U. urealyticum* pozitifliği saptandı. Bu hasta grubunda en fazla tespit edilen mikroorganizma *U. urealyticum* olarak bulundu.

Tablo 4.5. Hastaların cinsel davranış özellikleri ve semptomları ile mikroorganizma saptanması arasındaki ilişki (*p<0,05)

	Saptanan Mikroorganizma					Herhangi bir mikroorganizma saptanmayan grup
	<i>M. genitalium</i> (+) (n:6) n (%)	<i>M. hominis</i> (+) (n:8) n (%)	<i>U. urealyticum</i> (+) (n:18) n (%)	<i>U. parvum</i> (+) (n:14) n (%)	<i>N. gonorrhoeae</i> (+) (n:9) n (%)	
İlk cinsel ilişki yaşı ≤25 Yaş	6 (100)	8 (100)	17 (100)	11 (78,6)	8 (100)	51 (94,4)
>25 Yaş	0 (0)	0 (0)	0 (0)	3 (21,4)	0 (0)	3 (5,6)
Cinsel ilişki sıklığı Her gün	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	3 (5,6)
Haftada 3-4	2 (33,3)	2 (28,6)	3 (17,6)	0 (0)	3 (37,5)	16 (29,6)
Haftada bir	3 (50)	3 (42,8)	6 (35,3)	7 (58,3)	5 (62,5)	16 (29,6)
Haftada birden az	1 (16,7)	2 (28,6)	8 (47,1)	5 (41,7)	0 (0)	19 (35,2)
Son 12 ay içindeki partner sayısı ≤3	2 (33,3)	6 (75)	10 (58,8)	7 (53,9)	3 (37,5)	42 (79,2)
>3	4 (66,7)*	2 (25)	7 (41,2)	6 (46,1)	5 (62,5)*	11 (20,8)
Son 6 ay içinde cinsel ilişkiye girmek	6 (100)	8 (100)	16 (88,9)	14 (100)	8 (88,9)	47 (87,1)
Son 3 ay içinde yeni bir cinsel partnerle ilişki	5 (83,3)	6 (75)	12 (66,7)	10 (71,4)	7 (77,9)	23 (42,6)
Daha önceden tanı koyulmuş HIV ya da başka cinsel yolla bulaşan hastalık öyküsü	1 (16,7)	0 (0)	3 (16,7)	1 (7,1)	1 (11,1)	7 (13)
Daha önce bel soğukluğu veya genital akıntı, siğil gibi bir hastalık öyküsü	1 (16,7)	2 (25)	7 (38,9)	6 (42,9)	5 (55,6)	21 (38,9)
Yukarıdaki şikayetleri olan biriyle birliktelik	0 (0)	2 (28,6)	2 (11,1)	1 (7,1)	1 (11,1)	7 (13,5)
Seks işçisi biriyle birliktelik	1 (16,7)	4 (50)	7 (38,9)	5 (35,7)	2 (22,2)	17 (31,5)
Cinsel ilişki sırasında kondom kullanımı	2 (33,3)	2 (28,6)	9 (56,3)	5 (38,5)	1 (12,5)	22 (41,5)
Genital akıntı	5 (83,3)	4 (50)	13 (72,2)*	7 (50)	9 (100)*	23 (42,6)
Genital kaşıntı	3 (50)	5 (71,4)	9 (53)	8 (57,1)	8 (88,9)*	23 (42,6)
Cinsel ilişki sırasında ağrı-rahatsızlık hissi	2 (33,3)	2 (25)	8 (47,1)	6 (42,9)	5 (62,5)*	12 (23,1)
İdrar yaparken ağrı-rahatsızlık hissi	3 (50)	6 (75)	14 (77,8)	13 (92,9)	8 (88,9)	36 (66,7)
Kalça bölgenizde ağrı-rahatsızlık hissi	1 (16,7)	1 (12,5)	3 (16,7)	2 (14,2)	2 (22,2)	12 (22,2)
Testis ağrısı	2 (33,3)	3 (37,5)	8 (44,4)	4 (28,5)	4 (44,4)	23 (42,6)
Testislerde şişlik	2 (33,3)	1 (12,5)	2 (11,1)	1 (7,1)	2 (22,2)	6 (11,3)
Penis/testislerde kızarıklık	1 (16,7)	2 (25)	7 (38,9)	4 (28,5)	4 (44,4)	13 (24,1)

5. TARTIŞMA

Üretrit, üretranın inflamasyonu olarak tanımlanmaktadır. Bu sendroma genellikle *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, *M. genitalium* dahil olmak üzere cinsel yolla bulaşan patojenler ve nadiren Herpes simpleks virüsleri 1 ve 2, *T. vaginalis*, Adenovirüs gibi patojenler neden olur. Ağırlıklı olarak üretral akıntı ve dizüri, daha nadiren üretral tahriş, üretral kaşıntı semptomları şeklinde görülür (66).

Bu çalışmada üretrit semptomları ile gelen erkek hastalarda *M. genitalium*, *M. hominis*, *U. urealyticum*, *U. parvum* sıklığının moleküler yöntemle araştırılması amaçlanmıştır. Ayrıca hastalarda sık rastlanan CYBE etkenlerinden *T. vaginalis* ile *N. gonorrhoeae* de kültür yöntemiyle araştırılmıştır.

Mikoplazma ve üreaplazmaların tanısında kültür her ne kadar altın standart olarak kabul edilse de moleküler yöntemler duyarlılık ve özgüllük açısından çok daha iyi yöntemlerdir. Özellikle gerçek zamanlı PZR testleri mikoplazma ve üreaplazmaların saptanması için tercih edilen PZR yöntemidir. Yapılan bir çalışmada *Ureaplasma* spp., *M. hominis* ve *M. genitalium* tespiti için kültür ve PZR karşılaştırılmış ve PZR'nin, %70 duyarlılığa sahip olan kültüre kıyasla test duyarlılığını %24 artırdığı sonucuna varılmıştır (67). *U. urealyticum* tanısında kültür ve PZR'nin karşılaştırıldığı bir başka çalışmada, PZR yönteminin kültüre kıyasla çok daha duyarlı olduğu tespit edilmiştir. PZR'nin duyarlılığın daha yüksek olması, örnek toplama ile test etme arasında daha kolay bir iş akışı olması ve daha hızlı tanı konmasına olanak sağlaması avantajına da sahip olduğu sonucuna varılmıştır (68). Çalışmamızda mikoplazma ve üreaplazma türlerinin araştırılmasında, çalışmalarda önerilen yöntem olan gerçek zamanlı PZR yöntemi kullanılmıştır.

M. genitalium, erkek üretritine neden olan gerçek bir CYBE'dir. Türkiye'de ve dünyada çeşitli çalışmalarda semptomatik ve yüksek riskli hastalarda *M. genitalium* sıklığı %1,8-35 oranında bulunmuştur (4,69-74). Farklı hasta gruplarında PZR yöntemiyle *M. genitalium* sıklığının araştırıldığı çalışmalarda cinsel sağlık kliniğine başvuran üretritli erkeklerde %12 (75), 18 yaşından büyük

semptomlu ve semptomsuz erkeklerde %23 (76), üretrit tanısı alan erkek hastalarda %10,5 (4) oranında tespit edilmiştir. Bir başka çalışmada semptomatik erkeklerde *M. genitalium* enfeksiyonu sıklığı %12 saptanmış ve semptomatik kişilerin *M. genitalium* enfeksiyonu geçirme olasılığının asemptomatik kişilere göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (77). Bizim çalışmamızda semptomatik erkekler araştırılmış olup *M. genitalium* sıklığı %6,4 olarak bulunmuştur. Yapılan çalışmalar arasındaki farklı sonuçların seçilen hasta grubu, çalışmada kullanılan yöntem, hastaların riskli cinsel davranışları gibi çeşitli faktörlere bağlı olabileceği düşünülmüştür.

Yapılan çalışmalarda ve derlemelerde *U. urealyticum* sıklığı %3 ile %35 gibi geniş bir aralıkta verilmektedir (75,78,79). Bir derlemede (4) üretritli hastalarda *U. urealyticum* sıklığının %5-26 oranında olduğu bildirilmiştir. PZR yöntemiyle üretritli erkeklerde yapılan çalışmalarda *U. urealyticum* sıklığı, Khatib ve ark.'nın (75) çalışmasında %4,8, Sarier'in (80) yaptığı çalışmada %14,2 oranında tespit edilmiştir. Cinsel yolla bulaşan hastalık kliniğine başvuran erkek hastalarda *U. urealyticum* akut NGU'da %20 oranında (81), piyürisi olan erkeklerde yapılan çalışmada %26,7 oranında tespit edilmiştir (70). Başka bir çalışmada *U. urealyticum* kontrol grubunda %7,3, NGNCU'lu erkeklerde %18 oranında saptanmıştır (10). Multipleks PZR yöntemi kullanarak altı farklı cinsel yolla bulaşan patojeni araştıran çalışmada, ürogenital enfeksiyonu olan grupta *U. urealyticum* sıklığı %35 gibi yüksek bir oranda tespit edilmiştir (79). Üretrit semptomları olan erkek hastalarda multipleks PZR yöntemi kullanarak yaptığımız çalışmamızda *U. urealyticum* sıklığı %19,1 olarak bulunmuştur.

Akut üretrit nedeni olarak *M. hominis*'in durumu tartışmalıdır. Aynı cinsteki *M. genitalium*'un aksine, sağlıklı erkeklerin %9'unun üretral florasında kommensal olarak bulunabilir. Kantitatif PZR ile doğrulanmış akut üretritli erkeklerde prevalansı %3'tür (4). *U. parvum*'un *U. urealyticum*'un aksine, akut üretrit nedeni olarak değerlendirilebileceğine dair çok az kanıt vardır. Vaka kontrollü çalışmaları değerlendiren yakın tarihli bir meta-analizde, *U. parvum*'un NGU ile ilişkili olmadığı gösterilmiştir (4). *U. parvum*'un kantite edildiği bir çalışmada bakteri yükü NGU grupları ve kontrol grubunda benzer olarak bulunmuştur ve bu da etken bir

bakteri olamayacağı yönünde yapılmış bir tespittir. Yine aynı çalışmada *U. parvum* %16 oranında bulunmuştur (81). Bunların aksine özellikle çok sayıda bulunduğu, NGU'ya neden olabileceği de çalışmalarda öne sürülmüştür (30,31). Sarier'in (80) üretrit etkenlerini araştırdığı çalışmasında PZR yöntemiyle *U. parvum* %4,7 ve *M. hominis* %3,7 oranında tespit edilmiştir. Sönmez'in (69) yaptığı çalışmada *M. hominis* ve *U. parvum*'un görülme sıklığı sırasıyla %8,35 ve %10,86 olarak saptanmıştır. Bizim çalışmamızda da literatüre benzer şekilde *M. hominis* ve *U. parvum* sıklığı sırasıyla %8,5 ve %14,9 olarak bulunmuştur.

Gonore enfeksiyonları artan prevalans ve antibiyotik direnci nedeniyle ciddi önem arz etmektedir. Küresel gonore prevalansı yıldan yıla ve ülkeden ülkeye değişmekle birlikte, pozitifliğin en yüksek oranda CYBE kliniklerine başvuran homoseksüel erkekler arasında olduğu bildirilmiştir (82). Yapılan çalışmalarda Guatemala'daki CYBE kliniğine başvuran 229 kişide %35 ve Çin'deki 463 erkek arasında %22 olarak tespit edilmiştir (82-84). ABD'de gonore vakalarının sayısı 2013'ten 2017'ye %67 artış göstermiştir (43). Ayrıca ABD'de yapılan bir araştırmada ulusal surveyans sistemi incelenmiş ve erkeklerle seks yapan erkeklerde *N. gonorrhoeae* vakalarının 2006'dan 2015'e %54,8 arttığı tespit edilmiştir (85). ABD'nin aksine Birleşik Krallık'ta teşhis edilen gonore enfeksiyonu oranları 2002 ile 2009 arasında %30'dan fazla düşüş göstermiştir (86). Lübnan'da yapılan başka bir çalışmada cinsel yolla bulaşan enfeksiyonlar arasında *N. gonorrhoeae* %2,5 oranında tespit edilmiştir ve *N. gonorrhoeae* pozitif hastaların %92,5'i erkek olarak bulunmuştur (87). Yapılan bir meta-analizde, cinsel yolla bulaşan enfeksiyonlar açısından verileri olan 19 ülke için, 2010 yılında erkeklerde *N. gonorrhoeae* görülme sıklığının yılda 100.000 erkek başına 1,2 ila 42,2 vaka arasında değişmekte olduğu tespit edilmiştir (88). Ülkemizde üretrit semptomları olan 140 erkek hastada kültür ve BBL Crystal *Neisseria/Haemophilus* ID Kit (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ) kullanılarak yapılan bir çalışmada *N. gonorrhoeae* sıklığı %8,6 olarak tespit edilmiştir (89). Yapılan bir başka çalışmada steril piyürili hastalarda PZR yöntemiyle *N. gonorrhoeae* oranı %1,8 olarak saptanmıştır (70). *N. gonorrhoeae* sıklığı, üretritli erkeklerde yapılan bir çalışmada (90) %9,4, üretral akıntısı olan hastalarda yapılan bir başka çalışmada (91) %19,4

olarak tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızda da *N. gonorrhoeae* kültür yöntemiyle araştırılmış ve ülkemizde yapılan çalışmalara benzer olarak %9,6 oranında saptanmıştır.

Erkek üretrit vakalarında üretral akıntının Gram boyamasının tanı değeri yüksektir. Uygun şekilde uygulandığında Gram boyama, semptomatik erkeklerde genital gonore tanısı koymada %90-%95 duyarlılığa ve %95-%100 özgüllüğe sahiptir (46). Gram boyama için yaymanın, kültür örneğinin toplanmasında kullanılan farklı bir swab ile hazırlanması önerilmektedir (45). Bizim çalışmamızda kültürde 9 hastada *N. gonorrhoeae* üremesi tespit etmemize rağmen, sürüntü örneğinin Gram boyamasında 2 hastada PMNL ve Gram negatif diplokoklar gözlenmiştir. Bu durumun hem kültür hem de yaymanın aynı swab ile yapılmış olması ve hastaların kendi kendilerine aldıkları sürüntü örneklerinin, mikroskopide Gram negatif diplokokları tespit etmeye yetecek kadar yeterli olmaması gibi nedenlerden kaynaklanmış olabileceği düşünülmüştür.

Trikomoniyaz, *T. vaginalis*'in neden olduğu CYBE'dir. Dünyada en yaygın viral olmayan CYBE olmasına rağmen, uzun yıllar boyunca büyük ölçüde göz ardı edilmiştir. 2012 yılında, 15-49 yaş arasındaki kadınlarda, tahmini global prevalans trikomoniyaz için %5,0; erkekler için ise %0,6 olarak rapor edilmiştir (92). Ülkemizden bir çalışmada PZR yöntemiyle incelenen 374 örneğin (190 kadın, 184 erkek) %3,5'ünde *T. vaginalis* saptanmıştır. Kadınlarda *T. vaginalis* pozitifliği %6,3, erkeklerde ise %0,5 olarak belirlenmiştir (93). Dirençli akıntısı olan kadın ve erkeklerde yapılan diğer bir çalışmada PZR yöntemiyle kadınlarda %4,17, erkeklerde ise %0 olarak saptanmıştır (94). Demirağ ve ark. (95) yaptıkları çalışmada *T. vaginalis* sıklığının kadınlarda %8,1, erkeklerde %1 olduğunu tespit etmişlerdir. Yazısız ve ark. (96) vajinal akıntısı olan 18 yaş üzeri 215 kadında yaptıkları çalışmada %1,9 oranında *T. vaginalis* saptamışlardır. Ülkemizdeki 2002-2020 arasında yapılan çalışmalarla ilgili bir derlemede genel prevalans %5,94, kadınlarda %6,17 ve erkeklerde %2,87 olarak bulunmuştur (50). Üretrit semptomları olan erkek hastaları aldığımız çalışmamızda *T. vaginalis* saptanmamıştır.

CYBE etkenlerinin benzer bulaşma şekilleri göz önüne alındığında koenfeksiyon varlığı sık görülen, beklenen bir durumdur ve birçok çalışmada koenfeksiyonlar tespit edilmiştir (69,97,98). Bizim çalışmamızda da toplam 12 hastada (%12) aynı anda iki mikroorganizma, iki hastada (%2,1) ise aynı anda üç mikroorganizma tespit edilmiştir.

Genital akıntı üretrit en sık görülen semptomlarından biridir ve birçok CYBE etkeniyle oluşabilmektedir. Manhart ve ark. (77) yaptıkları çalışmada semptomu olan ve olmayan kadın ve erkeklerde *M. genitalium* sıklığını araştırmışlar ve semptomu olan hastalarda daha yüksek oranda *M. genitalium* pozitifliği saptamışlardır. En sık görülen semptomun üretral akıntı (%20,4), en az görülen semptomun ise peniste kaşıntı (%7,4) olduğu bildirilmiştir. Rietmeijer ve ark.'nın (99) yaptıkları çalışmada genital akıntısı olan erkek hastalarda özellikle akıntının pürülan ve yoğun kıvamlı olması ile *N. gonorrhoeae* saptanması arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilmiştir. Çalışmamızda hastalarda genital akıntı bulunması ile *N. gonorrhoeae* ve *U. urealyticum* saptanması arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır ($p<0,05$). Kadınlarda yapılan bir çalışmada cinsel ilişki sırasında ağrı şikayeti ile *N. gonorrhoeae* enfeksiyonu arasında anlamlı bir ilişki saptanmıştır (100). Bizim çalışmamızda semptomatik erkekler incelenmiş ve *N. gonorrhoeae* saptanması ile cinsel ilişki sırasında ağrı-rahatsızlık hissi olması arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmıştır ($p<0,05$).

CYBE'ler için ana risk faktörleri arasında 20-35 yaş arasında olmak, birden fazla partner, daha önce CYBE öyküsü ve özellikle de üretrit yer almaktadır (101,102). Genç kişilerde CYBE riskinin daha fazla olduğu bilinmekte ve literatürde konuyla ilgili yayınlar bulunmaktadır (28). de Souza ve ark. (102) yaptıkları çalışmada CYBE etkenlerini en sık 20-29 yaş aralığında tespit etmişlerdir. Rietmeijer ve ark.'nın (99) yaptıkları çalışmada üretral akıntısı olan erkeklerde cinsel yolla bulaşan etkenleri araştırılmış ve en fazla semptom saptanan yaş grupları 20-24 ve 25-29 yaş grupları olarak bulunmuştur. Manhart ve ark. (77) yaptıkları çalışmada semptomu olan ve olmayan kadın ve erkeklerde *M. genitalium* sıklığını araştırmışlar. Bu çalışmada en yüksek prevalans 15-24 yaş aralığında tespit

edilmiştir. *M. genitalium* pozitifliği 15-24 yaş aralığındaki erkeklerde, 35-49 yaş aralığından neredeyse 2 kat daha fazla bulunmuştur. Çalışmamızda herhangi bir mikroorganizma saptanan kişilere bakıldığında prevalansı en yüksek yaş grubu 26-34 yaş aralığı olarak saptanmıştır. *M. hominis* ve *N. gonorrhoeae* en sık 18-25 yaş grubunda görülürken, *M. genitalium*, *U. urealyticum* ve *U. parvum* en sık 26-34 yaş grubunda görülmüştür. 26-34 yaş aralığındaki *M. genitalium* prevalansı, 18-25 yaş aralığından yüksek bulunmuştur. İran’da yapılan bir çalışmada *M. genitalium* sıklığı, bizim çalışmamızdan daha ileri bir yaş aralığında (en sık 30-39 yaş) saptanmıştır (103). Türkiye’de yapılan bir çalışmada *M. hominis*, *M. genitalium* ve *U. parvum* en fazla 30-34 yaş grubunda görülürken, *U. urealyticum* 18-24 yaş grubunda görülmüştür (69). Bu çalışmadaki *M. genitalium* ve *U. parvum*’un en sık saptandığı yaş aralıkları bizim çalışmamızla uyumludur. En yüksek prevalans aralıklarındaki farklılıkların, cinsel aktiviteye başlama zamanı, ülkelerin sosyokültürel ve cinsel davranış özellikleri gibi çeşitli nedenlere bağlı olabileceğini düşünüyoruz.

Riskli cinsel davranışların ve özellikle de artan cinsel partner sayısının CYBE riskini arttırdığı bilinmektedir. Genç yetişkinlerde (18-27 yaş) yapılan araştırmada *M. genitalium* enfeksiyonu ile artan cinsel partner sayısı arasında güçlü bir ilişki bulunmuştur (25). Cinsel aktif 16-44 yaş arası kadın ve erkekler arasında yapılan başka bir çalışmada, *M. genitalium* enfeksiyonu için risk faktörleri arasında artan toplam ve yeni seks partneri sayısı ve güvenli olmayan cinsel ilişkiler sayılmıştır (104). *M. genitalium* prevalansı ve riskli davranışlarının araştırıldığı Danimarka’da yapılan bir çalışmada, 21-24 yaşları arasındaki genç erkeklerde artan cinsel partner sayısı ile *M. genitalium* pozitifliği arasında ilişki gözlemlenmiştir (105). Frølund ve ark. (81) yaptıkları çalışmada akut ve kronik NGU olan hastaları karşılaştırmışlar ve akut NGU olan hastaların kronik NGU olanlara göre son altı ay içinde anlamlı şekilde daha fazla partner sayısı olduğunu tespit etmişlerdir. Hayat boyu toplam partner sayılarını değerlendirdiklerinde ise, akut NGU olan hastalar ve kontrol grubunun, kronik NGU olanlara kıyasla anlamlı şekilde daha fazla partner sayısı olduğu tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızda da partner sayılarına göre incelendiğinde en fazla pozitiflik saptanan grup şu ana kadarki toplam partner sayısı

10 ve üzerinde olan grup olarak saptanmıştır ancak partner sayısı ile pozitiflik durumu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Ona ve ark.'nın (106) yaptıkları bir çalışmada *Mycoplasma* tespit edilme olasılığının artan cinsel partner sayısı ile ilgili olduğu ve iki veya daha fazla partneri olanlarda bu riskin önemli ölçüde arttığı tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızda da son bir yıl içindeki partner sayısının üç ve üzerinde olması ile *M. genitalium* ve *N. gonorrhoeae* pozitif olma arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olduğu saptanmıştır ($p<0,05$).

HIV bulaşı çoğunlukla cinsel yolla gerçekleşir ve genel olarak cinsel yolla bulaşan diğer bakteriyel ve viral enfeksiyonlar HIV bulaşma riskini artırır ve hastalığın ilerlemesine katkıda bulunur (107). CDC, HIV ile yaşayan kişilerin CYBE açısından taranmasını önermektedir (108). Bozdemir ve ark.'nın (109) yaptığı çalışmada, herhangi bir semptomu olmayan HIV pozitif hastalarda diğer cinsel yolla bulaşan etkenlerin sıklığı araştırılmıştır. Kadın olgulardan vajinal sürüntü örneği, erkek olgulardan üretral sürüntü örneği alınarak gerçekleştirilen çalışmada, PZR yöntemi ile *U. urealyticum* %22,2, *U. parvum* %16,7, *M. genitalium* %8,9, *M. hominis* %8,9, *N. gonorrhoeae* %5,5, *C. trachomatis* %2,2 oranında saptanmıştır. Yine ülkemizden yapılan bir çalışmada HIV ile yaşayan erkeklerde *N. gonorrhoeae*, *C. trachomatis*, *T. vaginalis* ve *M. genitalium* sıklığı PZR yöntemiyle araştırılmıştır. *M. genitalium* %5,6, *N. gonorrhoeae* %3,1, *U. urealyticum* %12,7 ve *C. trachomatis* %2,5 oranında tespit edilmiştir. *T. vaginalis* hiçbir hastada saptanmamıştır (110). ABD'de HIV ile enfekte, asemptomatik 102 kişide yapılan bir çalışmada *M. genitalium* %18,6, *T. vaginalis* %2 oranında tespit edilmiştir (111). Bizim çalışmamızda da hastaların daha önceden tanı koyulmuş HIV ya da başka cinsel yolla bulaşan hastalığı sorgulandığında, bu soruya evet yanıtını verenler arasında (n:12) bir hastada *U. urealyticum* ve *N. gonorrhoeae* birlikteliği, bir hastada *M. genitalium*, bir hastada *U. parvum* ve iki hastada da *U. urealyticum* pozitifliği saptandı. Bu hasta grubunda en fazla tespit edilen mikroorganizma *U. urealyticum* olarak bulundu.

6. SONUÇLAR

1. Çalışmamızda tüm yöntemler kullanılarak 39 (%41,5) hastada toplam 55 mikroorganizma tespit edildi. Bunlardan 18'i (%33) *U. urealyticum*, 14'ü (%25) *U. parvum*, dokuzu (%16) *N. gonorrhoeae*, sekizi (%15) *M. hominis* ve altısı (%11) *M. genitalium* olarak saptandı.

2. Çalışmaya dahil edilen 94 hastanın üretral sürüntü örneklerinin Gram boyalı mikroskopik incelenmesinde, iki hastada (%2,1) PMNL ve Gram negatif diplokoklar gözlenirken, 92 hastada (%97,9) PMNL ve mikroorganizma saptanmadı. İdrar örneklerinden *T. vaginalis* araştırılması için yapılan direk mikroskopik incelenmesinde tüm örnekler negatif olarak saptandı. Modifiye Martin-Lewis agar'a yapılan kültürde dokuz hastada (%9,6) *N. gonorrhoeae* üredi. Diamonds TYM besiyerine yapılan *T. vaginalis* kültürlerinde üreme saptanmadı.

3. Multipleks PZR yöntemiyle dokuz hastada (%9,6) miks enfeksiyonlar tespit edildi. Tespit ettiğimiz miks enfeksiyonlar incelendiğinde *M. hominis* + *U. urealyticum* üç (%3,2), *M. hominis* + *U. parvum* iki (%2,1), *U. parvum* + *U. urealyticum* dört (%4,3) hastada tespit edildi. PZR ile en fazla tespit edilen miks enfeksiyon *U. parvum* + *U. urealyticum* birlikteliği oldu.

4. *N. gonorrhoeae* saptanan dokuz hastanın yedisinde aynı zamanda PZR ile en az bir mikroorganizma saptandı. Bu hastaların üç tanesinde tek başına *U. urealyticum*, iki tanesinde tek başına *M. genitalium* ve iki tanesinde de *U. urealyticum* ve *U. parvum* birlikteliği saptandı.

5. *M. genitalium* ve *N. gonorrhoeae* pozitifliği ile son 12 ay içindeki partner sayısının üçten fazla olması arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı ($p<0,05$).

6. *U. urealyticum* ve *N. gonorrhoeae* pozitifliği ile hastalarda genital akıntı olması arasında anlamlı ilişki saptandı ($p<0,05$).

7. Ayrıca genital kaşıntı ve cinsel ilişki sırasında ağrı rahatsızlık hissi olması ile *N. gonorrhoeae* pozitifliği arasında anlamlı ilişki saptandı ($p<0,05$).

7. ÖZET

Üretrit Semptomları Olan Erkek Hastalarda *Mycoplasma* ve *Ureaplasma* Türlerinin Moleküler Yöntemle Araştırılması

Genitoüriner sistem enfeksiyonlarının çoğu cinsel yolla bulaşan patojenlerden kaynaklanır. Cinsel yolla bulaşan enfeksiyon (CYBE) terimi, bir patojenin cinsel temas yoluyla bulaşarak enfeksiyona neden olmasını ifade eder. CYBE'ler asemptomatik olabileceği gibi, yaygın semptomları arasında vajinal akıntı, üretral akıntı veya erkeklerde idrara çıkma sırasında yanma, genital ülserler ve karın ağrısı yer alır. Genitoüriner sistem enfeksiyonlarının nedenlerini tespit etmek için mikroskopi, kültür ve moleküler yöntemler kullanılır.

Çalışmamız üretrit semptomlarıyla başvuran erkek hastalarda *Mycoplasma* ve *Ureaplasma* türlerinin sıklığını moleküler yöntemle araştırmayı amaçlamaktadır. Ayrıca diğer CYBE etkenleri olan *Trichomonas vaginalis* ve *Neisseria gonorrhoeae*'nin sıklığının belirlenmesi de amaçlanmıştır.

Bu çalışmaya Şubat 2023 ile Ağustos 2023 tarihleri arasında üroloji polikliniklerine üretrit şikayetiyle başvuran 94 erkek dahil edildi. İlk akım idrarında multipleks PZR yöntemi ile *M. hominis*, *M. genitalium*, *U. urealyticum*, *U. parvum* araştırıldı. *T. vaginalis* ve *N. gonorrhoeae* mikroskopi ve kültür yöntemleriyle araştırıldı.

Üretral sürüntü örneklerinin Gram boyalı mikroskopik incelemesinde iki hastada (%2,1) PMNL ve Gram negatif diplokok görüldü. İdrar örneklerinin *T. vaginalis* için yapılan direkt mikroskopik incelemesinde tüm örneklerin negatif olduğu görüldü. Modifiye Martin-Lewis agarda dokuz hastada (%9,6) *N. gonorrhoeae* tespit edildi. Hiçbir örnekte Diamond's TYM besiyerinde *T. vaginalis*

üremesi tespit edilmedi. Multipleks PZR sonuçlarında 28 hastada (%29,8) tek mikroorganizma tespit edilirken, dokuz hastada (%9,6) mikst enfeksiyon [3 (%3,2) hastada *M. hominis* + *U. urealyticum*, 2 (%2,1) hastada *M. hominis* + *U. parvum* ve 4 (%4,3) hastada *U. parvum* + *U. urealyticum*] tespit edildi. Tüm yöntemler kullanılarak 39 hastada (hastaların %41,5'i) toplam 55 mikroorganizma tespit edildi. Bunlardan 18'i (%33) *U. urealyticum*, 14'ü (%25) *U. parvum*, dokuzu (%16) *N. gonorrhoeae*, sekizi (%15) *M. hominis* ve altısı (%11) *M. genitalium* olarak saptandı. *N. gonorrhoeae* saptanan dokuz hastanın yedisinde aynı zamanda PZR ile en az bir mikroorganizma saptandı. Bu hastaların üç tanesinde tek başına *U. urealyticum*, iki tanesinde tek başına *M. genitalium* ve iki tanesinde de *U. urealyticum* ve *U. parvum* birlikteliği saptandı.

M. genitalium ve *N. gonorrhoeae* pozitifliği ile son 12 ay içindeki partner sayısının üçten fazla olması arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı ($p<0,05$). *U. urealyticum* ve *N. gonorrhoeae* pozitifliği ile hastalarda genital akıntı olması arasında anlamlı ilişki saptandı ($p<0,05$). Ayrıca genital kaşıntı ve cinsel ilişki sırasında ağrı rahatsızlık hissi olması ile *N. gonorrhoeae* pozitifliği arasında anlamlı ilişki saptandı ($p<0,05$).

Bu çalışmanın sonuçları, üretrit semptomları olan erkek hastaların %41,5'inde en az bir mikroorganizmanın bulunduğunu ortaya çıkardı. En sık görülen enfeksiyon etkenleri sırasıyla *U. urealyticum*, *U. parvum*, *N. gonorrhoeae*, *M. hominis* ve *M. genitalium* idi.

Anahtar kelimeler: Üretrit, *Mycoplasma genitalium*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Ureaplasma*, PZR

8. ABSTRACT

Investigation of *Mycoplasma* and *Ureaplasma* Species Using Molecular Method in Male Patients with Urethritis Symptoms

Most genitourinary tract infections are caused by sexually transmitted pathogens. The term sexually transmitted infection (STI) refers to the transmission of a pathogen through sexual contact and causing infection. While STIs can be asymptomatic, common symptoms include vaginal discharge, urethral discharge or burning during urination in men, genital ulcers and abdominal pain. Microscopy, culture and molecular methods are used to detect the causes of genitourinary tract infections.

Our study aims to investigate the frequency of *Mycoplasma* and *Ureaplasma* species in male patients presenting with urethritis symptoms using a molecular method. It was also aimed to determine the frequency of *T. vaginalis* and *N. gonorrhoeae*, which are other STI agents.

94 men who applied to urology outpatient clinics with complaints of urethritis between February 2023 and August 2023 were included in this study. *M. hominis*, *M. genitalium*, *U. urealyticum*, *U. parvum* were investigated in first void urine using the multiplex PCR method. *T. vaginalis* and *N. gonorrhoeae* were investigated by microscopy and culture methods.

Gram stained microscopic examination of urethral swab samples revealed PMNL and Gram negative diplococci in two patients (2,1%). Direct microscopic examination of urine samples for *T. vaginalis* revealed that all samples were negative. *N. gonorrhoeae* was detected on modified Martin-Lewis agar in nine patients (9,6%). *T. vaginalis* was not detected in any sample on Diamond's TYM medium.

The multiplex PCR results showed that only one microorganism was detected in 28 patients (29,8%), mixed infections were detected in 9 patients (9,6%) (*M. hominis* + *U. urealyticum* was detected in 3 (3,2%), *M. hominis* + *U. parvum* in 2 (2,1%), and *U. parvum* + *U. urealyticum* in 4 (4,3%) patients). A total of 55 microorganisms were detected in 39 patients (41,5 % of the patients) using all methods. Of these, 18 (33%) were *U. urealyticum*, 14 (25%) were *U. parvum*, 9 (16%) were *N. gonorrhoeae*, 8 (15%) were *M. hominis* and 6 (11%) were *M. genitalium*. In seven of the nine patients with *N. gonorrhoeae*, at least one microorganism was also detected by PCR. *U. urealyticum* alone was detected in three of these patients, *M. genitalium* alone was detected in two patients, and the combination of *U. urealyticum* and *U. parvum* was detected in two patients.

A statistically significant relationship was found between *M. genitalium* and *N. gonorrhoeae* positivity and having more than three partners in the last 12 months ($p<0,05$). A significant relationship was found between *U. urealyticum* and *N. gonorrhoeae* positivity and genital discharge in patients ($p<0,05$). Additionally, a significant relationship was found between genital itching and pain and discomfort during sexual intercourse and *N. gonorrhoeae* positivity ($p<0,05$).

The results of this study revealed that 41,5% of male patients with urethritis symptoms had at least one microorganism. The most common infection agents were *U. urealyticum*, *U. parvum*, *N. gonorrhoeae*, *M. hominis* and *M. genitalium*, respectively.

Keywords: Urethritis, *Mycoplasma genitalium*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Ureaplasma*, PCR

9. KAYNAKLAR

1. Lanfranco OA, Alangaden GJ. 2016. Genitourinary tract infections. *Microbiol Spectrum* 4(4):DMIH2-0019-2015.
2. WHO. Sexually transmitted infections (STIs). [https://www.who.int/health-topics/sexually-transmitted-infections#tab=tab_1] (Erişim tarihi: 18.11.2023)
3. WHO. Sexually transmitted infections (STIs). Fact Sheet. [[https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/sexually-transmitted-infections-\(stis\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/sexually-transmitted-infections-(stis))] (Erişim tarihi: 18.11.2023)
4. Sarier, M., Kukul, E. Classification of non-gonococcal urethritis: a review. *Int Urol Nephrol* 51, 901–907 (2019).
5. William M. McCormack. Urethritis. In: Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Disease, 7, Gerald L Mandell, John E. Bennet, and Raphael Dolin (Eds), Elsevier, 2010. Vol I, p.1485
6. Schofield CB. Some factors affecting the incubation period and duration of symptoms of urethritis in men. *Br J Vener Dis* 1982; 58:184.
7. McNaghy SE, Parker RM, Zenilman JM, Lewis JS. Urinary leukocyte esterase test: a screening method for the detection of asymptomatic chlamydial and gonococcal infections in men. *J Infect Dis* 1992; 165:573.
8. Kent CK, Chaw JK, Wong W, et al. Prevalence of rectal, urethral, and pharyngeal chlamydia and gonorrhea detected in 2 clinical settings among men who have sex with men: San Francisco, California, 2003. *Clin Infect Dis* 2005; 41:67.
9. Bachmann LH. Urethritis in adult males. In: UpToDate, Marrazzo J (Ed), Wolters Kluwer. (Erişim tarihi: 18.11.2023.)
10. Hartmann M. Genital mycoplasmas. *J Dtsch Dermatol Ges.* 2009 Apr;7(4):371-7. English, German.
11. Horner P, Donders G, Cusini M, Gomberg M, Jensen JS, Unemo M. Should we be testing for urogenital *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma parvum* and

- Ureaplasma urealyticum in men and women?- a position statement from the European STI Guidelines Editorial Board. J Eur Acad Dermatol Venereol. 2018 Nov;32(11):1845-1851.
12. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA (Eds) Başustaoğlu AC (Çev ed) Mycoplasma ve Ureaplasma s.364-367. Tıbbi mikrobiyoloji 7. Baskı, Pelikan Kitabevi, Ankara, 2016
 13. Procop GW, Koneman EW. Mycoplasmas and ureaplasmas. In (eds J Procop GW, Church DL, Hall GS, Janda WM, Koneman EW, Schreckenberger PC, Woods GL) Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, 7th Edition. Philadelphia: Wolters Kluwer Health 2017 p.1172-1218
 14. Gdoura R, Kchaou W, Chaari C, Znazen A, Keskes L, Rebai T, Hammami A. Ureaplasma urealyticum, Ureaplasma parvum, Mycoplasma hominis and Mycoplasma genitalium infections and semen quality of infertile men. BMC Infect Dis. 2007 Nov 8;7:129.
 15. Soni S, Horner P, Rayment M, Pinto-Sander N, Naous N, Parkhouse A, Bancroft D, Patterson C, Fifer H. British Association for Sexual Health and HIV national guideline for the management of infection with *Mycoplasma genitalium* (2018). Int J STD AIDS. 2019 Sep;30(10):938-950.
 16. Waites KB, Katz B, Schelonka RL. Mycoplasmas and ureaplasmas as neonatal pathogens. Clin Microbiol Rev. 2005 Oct;18(4):757-89.
 17. Moridi K, Hemmaty M, Azimian A, Fallah MH, Khaneghahi Abyaneh H, Ghazvini K. Epidemiology of genital infections caused by Mycoplasma hominis, M. genitalium and Ureaplasma urealyticum in Iran; a systematic review and meta-analysis study (2000-2019). BMC Public Health. 2020 Jun 29;20(1):1020.
 18. Waites, K. B. & Taylor-Robinson, D. Mycoplasma and Ureaplasma. In (eds J.H. Jorgensen, K.C. Carroll, G. Funke, M.A. Pfaller, M.L. Landry, S.S. Richter, D.W. Warnock, K.C. Carroll, G. Funke, K.A. Bernard, J.S. Dumler, M.B. Miller, C.A. Petti and P.A.R. Vandamme), Manual of Clinical Microbiology. 11th ed. Washington, D.C.: ASM Press 2003.p.1088- 1105.

19. Baum S., Mycoplasma diseases. Mandell G.L., Bennett, J.E. *Principles and Practice of Infectious Disease*. Dolin, R., New york: churchill livingstone; 2005. 2269.
20. Eaton M.D., Meiklejohn G., Van Herick W., Corey M. Studies on the Etiology of Primary Atypical Pneumonia. Properties of the Virus Isolated and Propagated in Chick Embryos. *The Journal of experimental medicine*. 1945 Oct 31;82(5):317-28.
21. Ma L, Jensen JS, Mancuso M, Hamasuna R, Jia Q, et al. (2010) Genetic Variation in the Complete MgPa Operon and Its Repetitive Chromosomal Elements in Clinical Strains of Mycoplasma genitalium. PLoS ONE 5(12): e15660.
22. Henrich B, Feldmann RC, Hadding U. Cytoadhesins of Mycoplasma hominis. *Infect Immun*. 1993 Jul;61(7):2945-51.
23. Kapatais-Zoumbos, K., D. K. Chandler, and M. F. Barile. 1985. Survey of immunoglobulin A protease activity among selected species of *Ureaplasma* and *Mycoplasma*: specificity for host immunoglobulin A. *Infect. Immun*. 47:704–709.
24. Grenabo, L., H. Hedelin, and S. Pettersson. 1988. Urinary infection Stones caused by *Ureaplasma urealyticum*: a review. *Scand. J. Infect. Dis. Suppl*. 53:46–49.
25. Horner PJ, Martin DH. Mycoplasma genitalium Infection in Men. *J Infect Dis*. 2017 Jul 15;216(suppl_2):S396-S405.
26. Kokkayil P, Dhawan B. Ureaplasma: current perspectives. *Indian J Med Microbiol*. 2015 Apr-Jun;33(2):205-14.
27. Jensen JS, Cusini M, Gomberg M, Moi H. 2016 European guideline on Mycoplasma genitalium infections. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2016 Oct;30(10):1650-1656.
28. Workowski KA, Bachmann LH, Chan PA, Johnston CM, Muzny CA, Park I, et al. Sexually transmitted infections treatment guidelines, 2021. *MMWR Recomm Rep* 2021; 70(4): 1-187

29. Martin DH, Geisler WM. Mycoplasma genitalium infection. In: UpToDate, Marrazzo J (Ed), Wolters Kluwer. (Erişim tarihi: 18.11.2023.)
30. Cox C, McKenna JP, Watt AP, Coyle PV. Ureaplasma parvum and Mycoplasma genitalium are found to be significantly associated with microscopy-confirmed urethritis in a routine genitourinary medicine setting. Int J STD AIDS 2016; 27:861.
31. Deguchi T, Shimada Y, Horie K, et al. Bacterial loads of Ureaplasma parvum contribute to the development of inflammatory responses in the male urethra. Int J STD AIDS 2015; 26:1035.
32. Thomsen AC, Lindskov HO. Diagnosis of Mycoplasma hominis pyelonephritis by demonstration of antibodies in urine. J Clin Microbiol 1979; 9:681.
33. Jensen JS, Bjornelius E, Dohn B, Lidbrink P. 2004. Comparison of first void urine and urogenital swab specimens for detection of Mycoplasma genitalium and Chlamydia trachomatis by polymerase chain reaction in patients attending a sexually transmitted disease clinic. Sex Transm Dis 31:499–507.
34. Isenberg, H.D. (2004) Clinical Microbiology Procedure Handbook. Vol. 2, American Society for Microbiology, ASM Press. Bölüm 3.15
35. Salmeri M, Valenti D, La Vignera S, et al. Prevalence of Ureaplasma urealyticum and Mycoplasma hominis infection in unselected infertile men. J Chemother 2012;24:81–86
36. Wroblewski JK, Manhart LE, Dickey KA, et al. Comparison of transcription-mediated amplification and PCR assay results for various genital specimen types for detection of Mycoplasma genitalium. J Clin Microbiol 2006; 44:3306.
37. Deguchi T, Yoshida T, Yokoi S, Ito M, Tamaki M, Ishiko H, Maeda S. 2002. Longitudinal quantitative detection by real-time PCR of Mycoplasma genitalium in first-pass urine of men with recurrent nongonococcal urethritis. J Clin Microbiol 40:3854–3856.

38. Grau O, Kovacic R, Griffais R, Launay V, Montagnier L. 1994. Development of PCR-based assays for the detection of two human mollicute species, *Mycoplasma penetrans* and *M. hominis*. *Mol Cell Probes* 8:139–147.
39. Baczynska A, Svenstrup HF, Fedder J, Birkelund S, Christiansen G. 2004. Development of real-time PCR for detection of *Mycoplasma hominis*. *BMC Microbiol* 4:35.
40. Lin, E.Y., Adamson, P.C. & Klausner, J.D. Epidemiology, Treatments, and Vaccine Development for Antimicrobial-Resistant *Neisseria gonorrhoeae*: Current Strategies and Future Directions. *Drugs* 81, 1153–1169 (2021).
41. Olaleye AO, Babah OA, Osuagwu CS, Ogunsola FT, Afolabi BB. Sexually transmitted infections in pregnancy - An update on *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae*. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2020 Dec;255:1-12.
42. Shaughnessy J, Ram S, Rice PA. Biology of the *Gonococcus*: Disease and Pathogenesis. *Methods Mol Biol*. 2019;1997:1-27.
43. Unemo, M., Seifert, H.S., Hook, E.W. *et al.* Gonorrhoea. *Nat Rev Dis Primers* 5, 79 (2019).
44. Rotman E, Seifert HS. The genetics of *Neisseria* species. *Annu Rev Genet*. 2014;48:405-31. doi: 10.1146/annurev-genet-120213-092007. Epub 2014 Sep 10.
45. Elias, J., Frosch, M. and Vogel, U. *Neisseria*. In (eds J.H. Jorgensen, K.C. Carroll, G. Funke, M.A. Pfaller, M.L. Landry, S.S. Richter, D.W. Warnock, K.C. Carroll, G. Funke, K.A. Bernard, J.S. Dumler, M.B. Miller, C.A. Petti and P.A.R. Vandamme), *Manual of Clinical Microbiology*. 11th ed. Washington, D.C.: ASM Press 2003.p.635-651.
46. Procop GW, Koneman EW. *Neisseria* species and *Moraxella catarrhalis*. In (eds J Procop GW, Church DL, Hall GS, Janda WM, Koneman EW, Schreckenberger PC, Woods GL) *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*, 7th Edition. Philadelphia: Wolters Kluwer Health 2017 p. 614-669

47. Quillin SJ, Seifert HS. *Neisseria gonorrhoeae* host adaptation and pathogenesis. *Nat Rev Microbiol.* 2018 Apr;16(4):226-240.
48. Çeviri: Dr. Çiğdem Kayacan. Gram Negatif Koklar. Çeviri Editörü: Burçin Şener, Berrin Esen. Warren Levinson Tıbbi Mikrobiyoloji ve İmmünoloji. 14. Baskı. Ankara, Güneş Tıp Kitapevi 2018.p.128
49. Meyer T, Buder S. The Laboratory Diagnosis of *Neisseria gonorrhoeae*: Current Testing and Future Demands. *Pathogens.* 2020 Jan 31;9(2):91.
50. Beyhan YE. A systematic review of *Trichomonas vaginalis* in Turkey from 2002 to 2020. *Acta Trop.* 2021 Sep;221:105995.
51. Bhakta SB, Moran JA, Mercer F. 2020 Neutrophil interactions with the sexually transmitted parasite *Trichomonas vaginalis*: implications for immunity and pathogenesis. *Open Biol.* 10: 200192.
52. Novak-Weekley, S. and Leber, A.L. Intestinal and Urogenital Amebae, Flagellates, and Ciliates. In (eds J.H. Jorgensen, K.C. Carroll, G. Funke, M.A. Pfaller, M.L. Landry, S.S. Richter, D.W. Warnock, D.W. Warnock, B.S. Pritt and G.W. Procop), *Manual of Clinical Microbiology*. 11th ed. Washington, D.C.: ASM Press 2003.p.2399-2424.
53. Özcel MA, Yızdır Zeyrek F. *Trichomoniasis* Özcel MA, Editör. Tıbbi Parazit Hastalıkları. İzmir: Türkiye Parazitoloji Derneği Yayınları 2007.
54. Procop GW, Koneman EW. Parasitology. In (eds J Procop GW, Church DL, Hall GS, Janda WM, Koneman EW, Schreckenberger PC, Woods GL) *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*, 7th Edition. Philadelphia: Wolters Kluwer Health 2017 p. 1417-1499
55. Mielczarek E, Blaszkowska J. *Trichomonas vaginalis*: pathogenicity and potential role in human reproductive failure. *Infection.* 2016 Aug;44(4):447-58.
56. Kusdian G, Gould SB. The biology of *Trichomonas vaginalis* in the light of urogenital tract infection. *Mol Biochem Parasitol.* 2014 Dec;198(2):92-9.
57. Edwards T, Burke P, Smalley H, Hobbs G. *Trichomonas vaginalis*: Clinical relevance, pathogenicity and diagnosis. *Crit Rev Microbiol.* 2016 May;42(3):406-17.

58. Korich F, Reddy NG, Trent M. *Mycoplasma genitalium* and *Trichomonas vaginalis*: addressing disparities and promoting public health control of two emerging sexually transmitted infections. *Curr Opin Pediatr*. 2020 Aug;32(4):482-488.
59. Ryan CM, de Miguel N, Johnson PJ. *Trichomonas vaginalis*: current understanding of host-parasite interactions. *Essays Biochem*. 2011;51:161-75.
60. Sobel JD, Mitchell C. Trichomoniasis: Clinical manifestations and diagnosis. In: UpToDate, Marrazzo J, Barbieri RL (Ed), Wolters Kluwer. (Erişim tarihi: 18.11.2023.)
61. Hobbs MM, Seña AC. Modern diagnosis of *Trichomonas vaginalis* infection. *Sex Transm Infect*. 2013 Sep;89(6):434-8.
62. Schwebke JR, Gaydos CA, Davis T, Marrazzo J, Furgerson D, Taylor SN, Smith B, Bachmann LH, Ackerman R, Spurrell T, Ferris D, Burnham CA, Reno H, Lebed J, Eisenberg D, Kerndt P, Philip S, Jordan J, Quigley N. Clinical Evaluation of the Cepheid Xpert TV Assay for Detection of *Trichomonas vaginalis* with Prospectively Collected Specimens from Men and Women. *J Clin Microbiol*. 2018 Jan 24;56(2):e01091-17.
63. Üregenital Örnekler: Direkt Serum Fizyolojik ile Bakı 9.6.6 Çeviren: Gül den Sönmez Tamer Clinical microbiology procedures handbook. Garcia, Lynne Shore; Isenberg, Henry D. 3rd ed. / editor in chief, third edition and 2007 update, Lynne S. Garcia. Washington, DC: ASM Press, c2010.
64. Ulusal Mikrobiyoloji Standartları Bakteriyoloji / Test Prosedürleri / B-TP-03 / Sürüm: 1.1 / 01.01.2015
65. Daldal N, Taylan Özkan A. Parazit Kültürleri. Korkmaz M, Ok Ü.Z. Editör. Parazitolojide Laboratuvar. İzmir: Türkiye Parazitoloji Derneği Yayınları; 2011.p.87-117
66. Sadoghi B, Kränke B, Komericki P, Hutterer G. Sexually transmitted pathogens causing urethritis: A mini-review and proposal of a clinically

- based diagnostic and therapeutic algorithm. *Front Med (Lausanne)*. 2022 Aug 26;9:931765.
67. Stellrecht KA, Woron AM, Mishrik NG, Venezia RA. Comparison of multiplex PCR assay with culture for detection of genital mycoplasmas. *J Clin Microbiol*. 2004 Apr;42(4):1528-33.
68. Teng K, Li M, Yu W, Li H, Shen D, Liu D. Comparison of PCR with culture for detection of *Ureaplasma urealyticum* in clinical samples from patients with urogenital infections. *J Clin Microbiol*. 1994 Sep;32(9):2232-4.
69. Sönmez C. “Genital Mikoplazma” Sıklığının Multipleks Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile Saptanması: Klinikte önemli olabilir mi? *Türk Hij Den Biyol Derg*, 2018; 75(4): 375-382
70. Çuğlan S. S. Steril piyürili hastalarda *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium*, *Ureaplasma urealyticum*, *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae* ve *Mycobacterium tuberculosis*’in polimeraz zincir reaksiyonu ile saptanması. Uzmanlık Tezi, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Malatya, 2014.
71. Hu XM, Xu JX, Jiang LX, Deng LR, Gu ZM, Xie XY, Ji HC, Wang WH, Li LM, Tian CN, Song FL, Huang S, Zheng L, Zhong TY. Design and Evaluation of a Novel Multiplex Real-Time PCR Melting Curve Assay for the Simultaneous Detection of Nine Sexually Transmitted Disease Pathogens in Genitourinary Secretions. *Front Cell Infect Microbiol*. 2019 Nov 12;9:382.
72. Xiao L, Waites KB, Van Der Pol B, Aaron KJ, Hook EW 3rd, Geisler WM. *Mycoplasma genitalium* Infections With Macrolide and Fluoroquinolone Resistance-Associated Mutations in Heterosexual African American Couples in Alabama. *Sex Transm Dis*. 2019 Jan;46(1):18-24.
73. Gnanadurai R, Fifer H. *Mycoplasma genitalium*: A Review. *Microbiology (Reading)*. 2020 Jan;166(1):21-29.
74. Jurstrand M, Jensen JS, Fredlund H, Falk L, Mölling P. Detection of *Mycoplasma genitalium* in urogenital specimens by real-time PCR and by conventional PCR assay. *J Med Microbiol*. 2005 Jan;54(Pt 1):23-29.

75. Khatib N, Bradbury C, Chalker V, Koh GC, Smit E, Wilson S, Watson J. Prevalence of *Trichomonas vaginalis*, *Mycoplasma genitalium* and *Ureaplasma urealyticum* in men with urethritis attending an urban sexual health clinic. *Int J STD AIDS*. 2015 May;26(6):388-92.
76. Jordan SJ, Toh E, Williams JA, Fortenberry L, LaPradd ML, Katz BP, Batteiger BE, Nelson DE, Batteiger TA. Aetiology and prevalence of mixed-infections and mono-infections in non-gonococcal urethritis in men: a case-control study. *Sex Transm Infect*. 2020 Jun;96(4):306-311.
77. Manhart LE, Gaydos CA, Taylor SN, Lillis RA, Hook EW, III, Klausner JD, Remillard CV, Love M, McKinney B, Getman DK, on behalf of the AMES Clinical Study Group. 2020. Characteristics of *Mycoplasma genitalium* urogenital infections in a diverse patient sample from the United States: results from the Aptima *Mycoplasma genitalium* Evaluation Study (AMES). *J Clin Microbiol* 58:e00165-20.
78. Couldwell DL, Gidding HF, Freedman EV, et al. *Ureaplasma urealyticum* is significantly associated with non-gonococcal urethritis in heterosexual Sydney men. *Int J STD AIDS* 2010; 21:337.
79. Sun Z, Meng J, Wang S, Yang F, liu T, Zeng X, Zhang D, Zhu H, Chi W, Liu Y, Jiang W, Ding L, Miao Y, Wu Y, Zhao H and Zhang Y (2021) A New Multiplex Genetic Detection Assay Method for the Rapid Semi-Quantitative Detection of Six Common Curable Sexually Transmitted Pathogens From the Genital Tract. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 11:704037.
80. Sarier M. Prevalence of Polymicrobial Infection in Urethritis. *J Urol Surg* 2019;6(3):180-183.
81. Frølund M, Lidbrink P, Wikström A, Cowan S, Ahrens P, Jensen JS. Urethritis-associated Pathogens in Urine from Men with Non-gonococcal Urethritis: A Case-control Study. *Acta Derm Venereol*. 2016 Jun 15;96(5):689-94.
82. Kirkcaldy RD, Weston E, Segurado AC, Hughes G. Epidemiology of gonorrhoea: a global perspective. *Sex Health*. 2019 Sep;16(5):401-411.

83. García JI, Sabidó M, Nikiforov M, Smith A, Hernández G, Ortiz R, et al. The UALE project: a cross-sectional approach for trends in HIV/STI prevalence among key populations attending STI clinics in Guatemala. *BMJ Open* 2018; 8: e022632.
84. Yang L-G, Zhang X-H, Zhao P-Z, Chen Z-Y, Ke W-J, Ren X-Q. Gonorrhea and chlamydia prevalence in different anatomical sites among men who have sex with men: a cross-sectional study in Guangzhou, China. *BMC Infect Dis* 2018; 18(1): 675.
85. Weston EJ, Kirkcaldy RD, Stenger M, Lata E, Hoots B, Torrone EA. Narrative Review: Assessment of *Neisseria gonorrhoeae* Infections Among Men Who Have Sex With Men in National and Sentinel Surveillance Systems in the United States. *Sex Transm Dis.* 2018 Apr;45(4):243-249.
86. Creighton S. Gonorrhoea. *BMJ Clin Evid.* 2011 Mar 14;2011:1604.
87. Beayni NE, Hamad L, Nakad C, Keleshian S, Yazbek SN, Mahfouz R. Molecular prevalence of eight different sexually transmitted infections in a Lebanese major tertiary care center: impact on public health. *Int J Mol Epidemiol Genet.* 2021;12(2):16-23. Published 2021 Apr 15.
88. Kenyon C. Screening is not associated with reduced incidence of gonorrhoea or chlamydia in men who have sex with men (MSM); an ecological study of 23 European countries. *F1000Res.* 2019 Feb 6;8:160.
89. Pelit S, Bulut ME, Bayraktar B. The frequency of *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis* in patients with urethral symptoms. *Med J Bakirkoy* 2017;13:10-13.
90. Agacfidan A, Moncada J, Aydin D, Onel M, Alp T, Isik N, Badur S, Ang O. Prevalence of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* in Turkey among men With urethritis. *Sex Transm Dis.* 2001 Nov;28(11):630-2.
91. Arıkan S, Tunçkanat F, Tekin A, Erkan İ. Üretral akıntı nedeniyle başvuran hastalarda mikrobiyolojik etkenlerin araştırılması. *Mikrobiyoloji Bülteni* 1997;31:21-27.

92. Newman L, Rowley J, Hoorn SV, Wijesooriya NS, Unemo M, Low N, et al. Global estimates of the prevalence and incidence of four curable sexually transmitted infections in 2012 based on systematic review and global reporting. *PLoS One* 2015;10(12):e0143304
93. SÖNMEZ, Cemile & Usluca, Selma. (2018). Cases with Urogenital Discharge: Trichomonas vaginalis Rates?. *Flora the Journal of Infectious Diseases and Clinical Microbiology*. 23. 79-83. 10.5578/flora.66829
94. Sonmez, Cemile & Usluca, Selma & Usluca, Ismail & Kalipci, Irem & Sezen, Figen & Atalay, Cemal & Kilic, Selcuk. (2018). Evaluation of Symptomatic Patients with Resistant Discharge. *Acta dermatovenerologica Croatica : ADC*. 26. 1-7.
95. Demirağ S, Malatyali E, Ertuğ S, Ertabaklar H. Trichomonas vaginalis izolatlarında PZR-restriksiyon parça uzunluk polimorfizm (RFLP) yöntemi ile genotiplerin belirlenmesi. *T Parazit Derg* 2017;41:188-91.
96. Yazısız H, Koyuncu Özyurt Ö, Öztürk Eryiğit F, Özhak B, Öngüt G, Özekinci M, Dönmez L, Çolak D, Gümüş S, Ögünç D. Trichomonas vaginalis Enfeksiyonu Tanısında Mikroskopik İnceleme, Kültür ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu Testlerinin Değerlendirilmesi [Evaluation of Microscopic Examination, Culture and Polymerase Chain Reaction Tests in the Diagnosis of Trichomonas vaginalis Infection]. *Mikrobiyol Bul*. 2020 Jan;54(1):135-143. Turkish.
97. Lee TF, Lin KY, Chang SY, Huang YT, Hsueh PR. Performance of two commercial multiplex polymerase chain reaction assays for the etiological diagnosis of sexually transmitted infections among men who have sex with men. *J Microbiol Immunol Infect*. 2023;56(1):104-110.
98. Hamill MM, Onzia A, Wang TH, et al. High burden of untreated syphilis, drug resistant Neisseria gonorrhoeae, and other sexually transmitted infections in men with urethral discharge syndrome in Kampala, Uganda. *BMC Infect Dis*. 2022;22(1):440. Published 2022 May 7.
99. Rietmeijer CA, Mungati M, Machiha A, Mugurungi O, Kupara V, Rodgers L, Kilmarx PH, Roloff AH, Gonese E, Tippet-Barr BA, Shambira G, Lewis

- DA, Handsfield HH, Tshimanga M. The Etiology of Male Urethral Discharge in Zimbabwe: Results from the Zimbabwe STI Etiology Study. *Sex Transm Dis*. 2018 Jan;45(1):56-60.
100. Mayaud P, Grosskurth H, Changalucha J, Todd J, West B, Gabone R, Senkoro K, Rusizoka M, Laga M, Hayes R, et al. Risk assessment and other screening options for gonorrhoea and chlamydial infections in women attending rural Tanzanian antenatal clinics. *Bull World Health Organ*. 1995;73(5):621-30.
101. World Health Organization. Sexually transmitted infections. Geneva: WHO; 2019.
102. de Souza LS, Sardinha JC, Talhari S, Heibel M, Santos MND, Talhari C. Main etiological agents identified in 170 men with urethritis attended at the Fundação Alfredo da Matta, Manaus, Amazonas, Brazil. *An Bras Dermatol*. 2021;96(2):176-183.
103. Yeganeh O, Jeddi-Tehrani M, Yaghmaie F, Kamali K, Heidari-Vala H, Zeraati H et al. Genitalium infections in symptomatic and asymptomatic men referring to Urology Clinic of Labbafinejad Hospital, Tehran, Iran. *Iran Red Crescent Med J*, 2013; 15(4): 340–4.
104. Sonnenberg P, Ison CA, Clifton S, et al. Epidemiology of *Mycoplasma genitalium* in British men and women aged 16–44 years: evidence from the Third National Survey of Sexual Attitudes and Lifestyles (NATSAL-3). *Int J Epidemiol* 2015; 44:1982–94.
105. Andersen B, Sokolowski I, Østergaard L, Kjølseth Møller J, Olesen F, Jensen JS. *Mycoplasma genitalium*: prevalence and behavioural risk factors in the general population. *Sex Transm Infect* 2007; 83:237–41.
106. Ona S, Molina RL, Diouf K. *Mycoplasma genitalium*: An Overlooked Sexually Transmitted Pathogen in Women?. *Infect Dis Obstet Gynecol*. 2016;2016:4513089.
107. Taylor MM, Wi TE. Transforming and integrating STI surveillance to enhance global advocacy and investment in STI control. *J Int AIDS Soc*. 2019;22(6): e25361.

- 108.CDC. STDs and HIV Fact Sheet. Centres for Disease Control and Prevention, 2010. [<https://www.cdc.gov/std/hiv/stds-and-hiv-fact-sheet.pdf>].
- 109.Bozdemir T, Çiçek C Gökengin D, Aydemir SŞ, Altuğlu İ, Önal U, Köse T, Pullukçu H. HIV pozitif kişilerde cinsel yolla bulaşan etkenlerin sıklığı, Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2021;51(2):119-25.
- 110.Ayaz ÇM, Karakaplan ND, İnkaya AÇ, Çakır B, Ünal S, Zarakolu P. HIV ile yaşayan erkeklerde Neisseria gonorrhoeae, Chlamydia trachomatis, Trichomonas vaginalis ve Mycoplasma genitalium sıklığının sosyodemografik özellikler ve davranışsal risk faktörleri ile birlikte araştırılması. Mikrobiyol Bul 2023;57(3):378-389.
- 111.Hakre S, Casimier RO, Danboise BA, Peel SA, Michael NL, Scott PT, Okulicz JF. Enhanced Sexually Transmitted Infection Screening for Mycoplasma genitalium in Human Immunodeficiency Virus -Infected US Air Force Personnel. Clin Infect Dis. 2017 Oct 16;65(9):1585-1588.