

ARAŞTIRMA / RESEARCH

Çörek Otu (*Nigella sativa*) Yağının *Trichomonas vaginalis*'e Karşı in vitro Anti-trikomonyaz Etkisinin Araştırılması*Investigation of in vitro Anti-trichomoniasis Effect of Nigella Sativa Oil against Trichomonas vaginalis*Ayşegül Aksoy Gökmen, Dr. Öğr. Üyesi¹, Hüsnüye Kayalar, Prof. Dr.², Bayram Pektaş, Uzm. Dr.³, Selçuk Kaya, Prof. Dr.¹¹İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı²Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Ana Bilim Dalı, İzmir³İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Atatürk Eğitim Araştırma Hastanesi

Kabul tarihi/Accepted: 26.03.2018

İletişim/Correspondence:

Dr. Ayşegül Aksoy Gökmen, İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

E-posta: aaksoygokmen@hotmail.com

Özet

Amaç: Trikomonyazın güncel tedavisinde 5-nitroimidazol türevleri (metronidazol, ornidazol) kullanılmasına rağmen, *Trichomonas vaginalis* türlerinin metronidazole karşı direnç geliştirdiği yaklaşık 50 yıldır bilinmektedir. Bu nedenle trikomonyaz tedavisinde uzun süredir alternatif tedavi yöntemleri araştırılmaktadır. Bu çalışmada çörek otu yağının *Trichomonas vaginalis*'e karşı in vitro etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. **Gereç ve Yöntem:** Çörek otu yağı ve metronidazolün *T. vaginalis*'e karşı etkinliğinin araştırılması işlemi 24 kuyucuklu hücre kültürü plaklarında dilüsyon yöntemiyle gerçekleştirilmiştir. Bu işlem için kısaca, *T. vaginalis* trofozoitleri TYM besiyeri içeren hücre kültürü plaklarına alınmıştır. Daha sonra, çörek otu yağı ve metronidazolün farklı konsantrasyonları plaklara eklenmiş ve 37°C'de inkübe edilmişlerdir. **Bulgular:** İnkübasyonun 48. saatinde, 250 µg/ml konsantrasyonda hareketli trofozoitlerin görülmüş olmasına rağmen 500 µg/ml, 1000 µg/ml ve 2000 µl/ml konsantrasyonlarda hareket gözlenmemiştir. 72. saatte, 250 µl/mg konsantrasyonu hariç geriye kalan tüm konsantrasyonlarda hareket görülmemesine ek olarak hücre lizisi görülmüştür. Ayrıca 72. saat sonunda minimum inhibitör konsantrasyon (MLK) 500µl/mg iken, minimum lethal konsantrasyon (MLK) 1000 µl/mg'dir. **Sonuç:** Bu çalışmada çörek otu yağı, trikomonyaz tedavisi için alternatif bir terapötik ajan olarak in vitro ortamda denenmiş ve trikomonyaz tedavisinde doğal önemli bir tedavi edici potansiyele sahip olduğu bulunmuştur. Bundan sonraki çalışmalarda daha ileri in vivo araştırmaların yapılması ve aktiviteden sorumlu olabilecek bileşenlerin tespiti planlanmaktadır.

Anahtar Kelimeler: *Trichomonas vaginalis*, *nigella sativa*, anti-trikomonyaz etki.**Abstract**

Objective: Although 5-nitroimidazole derivatives (metronidazole, ornidazole) are being used in the current treatment of trichomoniasis, it has been known the presence of MTZ-resistant *T. vaginalis* strains for almost 50 years. Therefore, alternative treatment methods are being investigated for a long time for treatment of trichomoniasis. In this study, it was aimed to investigate in vitro activity of Nigella sativa oil against *Trichomonas vaginalis*. **Material and Methods:** In vitro testing of Nigella sativa and metronidazole against *T. vaginalis* was performed in cell culture plate by dilution method. Briefly, *T. vaginalis* trophozoites were transferred to 24-well plate containing TYM medium. Thereafter, different concentrations of Nigella sativa and metronidazole were added to each well and incubated at 37°C. **Findings:** At 48th hour of incubation, although motile trophozoites at 250 µg/ml concentration of Nigella sativa oil were observed, immotile trophozoites were detected at 500 µg/ml, 1000 µg/ml and 2000 µl/ml concentrations of Nigella sativa oil. At 72th hour, immotile trophozoites as well as trophozoite lysis were detected in all concentration of Nigella sativa oil, except for 250 µg/ml concentration. Also at the end of 72th hour for Nigella sativa, MIC was 500 µl/mg while MLK was 1000µl/mg. **Conclusion:** In this study, Nigella sativa oil was tested in vitro as an alternative therapeutic agent for treatment of trichomoniasis and it has been found that Nigella sativa oil has a naturally important therapeutic potential for trichomoniasis treatment. In vivo tests and the isolation and identification of compounds responsible for the detected activity are planned for further investigations.

Keywords: *Trichomonas vaginalis*, *nigella sativa*, anti-trichomoniasis effect.**Giriş**

Trichomonas vaginalis'in (*T. vaginalis*) neden olduğu olmayan ve sık görülen enfeksiyonlar arasında yer almaktadır. trikomonyaz, cinsel yolla bulaşan hastalıklar içinde viral Trikomonyaz tüm dünyada yaygın olarak görülmekle

birlikte insidansı, gelişmemiş veya gelişmekte olan ülkelerde daha yüksektir (Özcel & Zeyrek, 2007).

Trikomoniyazın güncel tedavisinde 5-nitroimidazol türevleri (metronidazol, ornidazol) kullanılmaktadır. Metronidazol ilk tercih edilen ilaç olmasına rağmen mutajenik ve karsinojeniktir. Bazı *Trichomonas vaginalis* türlerinin metronidazole karşı direnç kazandığı yaklaşık yarım asırdır bilinmektedir. Bu nedenle trikomoniyaz tedavisinde uzun süredir alternatif tedavi yöntemleri araştırılmaktadır. Tıp ve eczacılığın tarihsel gelişimine bakıldığında tedaviye giren ilk ilaçların, halk ilaçları olduğu görülmektedir. Günümüzde de modern tıbbın olanakları ne kadar gelişmiş olursa olsun geleneksel uygulamalar varlığını sürdürmektedir (İnceboz, İnceboz, & Öztürk, 2004; Gökmen, Girginkardeşler, Kilimcioğlu, Şirin, & Özbilgin, 2016).

Nigella sativa, Ranunculaceae (Düğün çiçeğigiller) familyası içerisinde bulunan bir tür olup halk arasında çörek otu olarak bilinmektedir. *Nigella sativa* için ülkemizde kullanılan diğer isimler; ekilen çörek otu, kara çörek otu ve siyah kimyondur (Kaya, Kara, & Özbek, 2003). *Nigella sativa*'nın eski Mısırlılardan antik Yunan uygarlığına dek pek çok kültürde sağlık için kullanıldığı belirtilmiştir. Özellikle Hindistan, Arap ülkeleri ve Avrupa'da astım, hipertansiyon, diyabet, inflamasyon, öksürük, bronşit, baş ağrısı, egzama, ateş, böbrek yetmezliği gibi hastalıklarda tıbbi amaçlarla veya günlük hayatta besin olarak kullanılmaktadır. Son zamanlarda yapılmış çalışmalarda, antioksidan, antienflamatuvar, antikanser, antimikrobiyal, antifungal ve antiparazitik aktivitelere de sahip olduğu bildirilmiştir (Kaya vd., 2003). Ayrıca, *Nigella sativa*'nın giardiasis, blastosistozis ve kandidiyazis tedavisinde terapötik etkilere sahip olduğu bildirilmiştir (Mona Abd El-Fattah, Mahmoud, Aminou, & Hashem, 2016).

Trichomonas vaginalis trofozoitleri üzerinde çörek otu ekstraktları ve yağının anti-trikomoniyaz etkisinin olduğunu bildiren az sayıda çalışma bulunmaktadır.

Amaç

Bu çalışmada ticari olarak piyasada preparatı olan, kolay bulunabilen, toksik etkisi ve yan etkisi olmadığı bilinen, çörek otu yağının kamçılı bir protoozon olan *Trichomonas vaginalis* üzerindeki anti-trikomoniyaz etkisinin in vitro ortamda araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Tripticase Yeast Extract Maltose (TYM) besiyerinin hazırlanışı

TYM besiyeri için 0.5 mg L-cystein HCl, 0.1 g askorbik asit, 0.4 g K₂HPO₄, 0.4 g KH₂PO₄, 10 g triptikaz, 2.5 g maltoz, 10 g yeast extract 300 ml distile su içinde eritilmiştir. Karışımdan 90 ml alınmış ve içine 0.25 g bacto-agar eklenerek, pH 6'ya ayarlanmıştır. Sonrasında 120°C'de 10 dakika sterilize edilen besiyeri, ekim amacıyla kuyucuklara 1.6 ml olacak şekilde dağıtılmıştır. Kullanılncaya kadar +4°C'de bekletilen her besiyeri içeren kuyucuğa, kullanım öncesi 100 IU/ml streptomisin, 100 IU/ml penisilin ve son hacim 2 ml olacak şekilde FBS eklenmiştir (Gökmen, Girginkardeşler, Kilimcioğlu, Şirin, & Özbilgin, 2016).

Trichomonas vaginalis'in elde edilmesi

Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji Laboratuvarında önceden sıvı azot içinde kriyoprezervasyon

yapılarak saklanmış bulunan *T. vaginalis* suşunun tripticase yeast extract maltose (TYM) besiyerlerine ekimleri yapılmıştır. *T. vaginalis* suşunun TYM besiyerine 48-72 saatte bir pasajları yapılarak canlı olarak elde tutulmuş 105/mm³ yoğunluğunda tek tip *T. vaginalis* süspansiyonları elde edilmiştir (Gökmen, Girginkardeşler, Kilimcioğlu, Şirin, & Özbilgin, 2016).

Çörek otu yağının hazırlanması

Çörek otu yağı ekstresi ticari olarak Zade-Vital firmasından temin edilmiştir. Çörek otu yağı ekstresi soğuk pres yöntemi ile üretici firma tarafından hazırlanmıştır. Kullanılana kadar +4 °C saklanmıştır.

Trichomonas vaginalis'e çörek otu yağı ve metronidazol uygulanması

T. vaginalis suşu TYM, antibiyotik (penisilin+streptomisin) ve FBS içeren besiyerinde beş kez pasaj yapılarak çalışmaya alınmıştır. Daha sonra *T. vaginalis* trofozoitleri antibiyotiksiz besiyerinde de üç kez daha pasajlanmıştır. In vitro duyarlılık testi için çörek otu yağı ve metronidazol kullanılmıştır. Saf kültürler elde edildikten sonra çörek otu yağı ve metronidazolün *T. vaginalis*'e karşı minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) ve minimum lethal konsantrasyon (MLK) değerleri in vitro olarak 24 kuyucuklu hücre kültürü plaklarında dilüsyon yöntemiyle araştırılmıştır. Her kuyucuğa son hacim 2 ml olacak şekilde besiyeri (TYM+streptomisin+penisilin+FBS), sayma kamarasında 5x10⁵/mm³ olan *T. vaginalis* trofozoitleri, çörek otu yağı ve metronidazol eklenmiştir. Çörek otu yağı in vitro anti-trikomoniyaz etkisinin araştırılmasında 250 µg/ml, 500 µg/ml, 1000 µg/ml ve 2000 µg/ml konsantrasyonları test edilmiştir. Ayrıca, hücre kültürü plaklarına metronidazol 400, 200, 100, 50 ve 25 µg/ml konsantrasyonda ikişer kuyucuk olacak şekilde ilave edilmiştir.

Üreme kontrolü için test ettiğimiz çörek otu yağı ve metronidazol içermeyen *T. vaginalis* suşu eklenmiş iki kuyucuk hazırlanmıştır. Kontaminasyon kontrolü için ise çörek otu yağı, metronidazol ve *T. vaginalis*'in eklenmediği iki kuyucuk çalışılmıştır.

Plaklar 37°C'de inkübe edilerek 24, 48 ve 72. saatlerde sayma kamarasında *T. vaginalis* trofozoitlerinin canlılığı ve hareketliliği x400 büyütme ile ışık mikroskopunda değerlendirilmiştir. MİK değeri *T. vaginalis* trofozoitlerinde hareketliliğin gözlenmediği en son kuyucuktaki dilüsyon olarak değerlendirilmiştir. MLK değeri ise hareketsiz *T. vaginalis*'lerin bulunduğu kuyucuklardan alınan trofozoitlerin canlı olmadıklarını kanıtlamak için yeni besiyeri kuyucuğuna ekilip, 24, 48 ve 72. saatlerde üreme kontrolü yapılarak tanımlanmıştır (Gökmen, Girginkardeşler, Kilimcioğlu, Şirin & Özbilgin, 2016).

Etik Kurul Onayı

In vitro koşullarda gerçekleştirilen ve herhangi bir insan ya da hayvan örneği kullanılmamış bu çalışma için etik kurul onayı alınmamıştır.

Bulgular

In vitro duyarlılık testinde, 24. saatteki ilk mikroskopik incelemede çörek otu eklenen tüm kuyucuklarda hareketli *T. vaginalis* trofozoitlerinin olduğu saptanmıştır. Kuyucuklardaki hareketli trofozoit sayısının azalan çörek otu yağı dilüsyonlarına paralel olarak arttığı gözlenmiştir.

48. saat için, 250 µg/ml konsantrasyonda hareketli trofozoitler görülmüş olup 500 µg/ml, 1000 µg/ml ve 2000 µl/ml konsantrasyonda ise hareket gözlenmemiştir. Bunun yanında 72. saatte, 250 µl/mg konsantrasyonu hariç geriye kalan tüm konsantrasyonlarda hareket görülmemesine ek olarak hücre lizisi görülmüştür (Tablo 1). Ayrıca 72. saat sonunda MLK 500 µl/mg iken, MLK 1000 µl/mg'dir.

Tablo 1. Çörek Otu Yağının Çeşitli Konsantrasyonlarının 24-72 Saatleri Arasındaki Anti-Trikomonyaz Etkisi

Konsantrasyon		Çörek otu yağı (saat)		
		24.	48.	72.
2000 µl/mg	Hareket	+	-	-
	Lizis	-	-	+
1000 µl/mg	Hareket	+	-	-
	Lizis	-	-	+
500 µl/mg	Hareket	+	-	-
	Lizis	-	-	-
250 µl/mg	Hareket	+	+	+
	Lizis	-	-	-

72. saat sonunda metronidazol için MLK 25 µg/ml, MLK 50 µg/ml olarak bulunmuştur. Saptanan MLK değerlerine göre *T. vaginalis* suşu metronidazole duyarlı bulunmuştur.

"Çörek otu yağının Anti-trikomonyaz etkisi gösterilmiştir"

Tartışma

Metronidazol ilk tercih edilen ilaç olmasına rağmen baş ağrısı, ağız kuruluğu, bulantı, kusma, metalik tat ve glossit (dil iltihabı) görülmekte ayrıca, uzamış ve yüksek dozlarda kullanıldığında ise ürtiker ve anjio-ödem gibi tablolara neden olmaktadır. Bunlara ek olarak, nadiren geçici nötrofil düşüklüğüne neden olabilen metronidazolün hamilelik boyunca kullanımı tartışmalı olup özellikle gebeliğin ilk üç ayında kullanımı yasaklanmıştır (Özcel & Zeyrek, 2007; İnceboz vd., 2004). Trikomonyazın tedavisinde en etkili ilaç olan metronidazole karşı direnç olması ve gebelikte kullanımının önerilmemesi nedeniyle yeni alternatif ilaçların arayışına girilmiştir. Geleneksel kullanımı olduğu bilinen tıbbi bitkiler günümüzde birçok kronik hastalıkta ve enfeksiyonda kullanılmaktadır. Çeşitli şifalı bitkiler arasından, çörek otu zengin bir tarihi ve dini kökene sahip mucizevi bitki olarak ortaya çıkmıştır. Çörek otu ekstresi ve yağıyla ilgili pek çok farmakolojik araştırma yapılmıştır. Parazitlere karşı tedavide kullanıldığını bildiren yayınlar da bulunmaktadır (Mona Abd El-Fattah vd., 2016; Bishara & Masoud, 1992). *N. sativa* alkol ekstraktının, giardiasis tedavisinde metronidazol kadar etkili olduğu bulunmuştur (Mona Abd El-Fattah vd., 2016). Su ekstresi *Blastocystis hominis*'e karşı inhibisyon etki göstermiştir (El Wakil, 2007). Çörekotu yağı ve alkol ekstresi trikomonyaz tedavisinde metronidazol kadar etkili bulunmuştur (Al-Homidan, Al-Qarawi, Al-Waily, & Adam, 2016).

Bu çalışmada da çörek otu yağının *T. vaginalis* trofozoitleri üzerine olan anti-trikomonyaz etkisi in vitro koşullarda araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, 24-72. saatler arasında, 250 µg/ml konsantrasyonun önemli bir anti-trikomonyaz etkisinin olmadığı, 48. saatte 500 µg/ml konsantrasyonda trofozoitlerin hareketlerinin kaybolduğu, 1000 µg/ml konsantrasyonda ise hareket kaybı yanında hücre lizisinin ortaya çıktığı görülmüştür.

"Çörek otu yağının 250 µl/mg üzeri konsantrasyonu anti-trikomonyaz etki göstermiştir"

N. sativa'nın terapotik etkileri kapsamlı olarak çalışılmıştır. Buna göre, diüretik antioksidan, antihipertansif, antidiyabetik, antikanser ve immünomodülatör, analjezik, antimikrobiyal, antihelmintik, antiprotozoal, antienflamatuvar, spazmolitik, bronkodilatör, gastroprotektif, bronşit, astım, ishal, romatizma ve deri hastalıklarının tedavisinde yaygın olarak kullanıldığı belirtilmiştir (Kaya vd., 2003; Mona Abd El-Fattah vd., 2016).

Çörek otu yağındaki anti-protozoal aktivitenin yağda bulunan yağ asitlerine bağlı olabileceği düşünülmektedir. Potansiyel yağ asitleri arasında omega 3, 6 ve 9'a ek olarak omega 7 yer almakta olup bunların *T. vaginalis* trofozoitleri üzerinde sinerjistik etkilerinin olabileceği ön görülmektedir (Aminou, Alam-Eldin, & Hashem, 2016). Buna göre, yağ asitlerinin hücre membranları ile etkileşerek, sızıntıya, besin alımının azaltılmasına veya hücre solunumunun engellenmesine yol açan değişken boyutta geçici veya kalıcı gözenekler oluşturabileceği belirtilmiştir. Başka bir açıklamada da, *T. vaginalis* yüksek miktarda yağ asitleri konsantrasyonlarına maruz kaldığında (esas olarak oleik asit ve linoleik asit) bu yağ asitlerinin inhibisyona neden olabileceği ve organizmadaki lipidik metabolik süreçleri etkileyebileceği rapor edilmiştir (Mona Abd El-Fattah vd., 2016).

T. vaginalis patogeneğinde adezyon molekülleri önemli rol oynamaktadır. Önceki yapılan bir çalışmada, çörek otunun *T. vaginalis*'in vajen epiteline yapışmasını önlediği belirtilmiştir (Shaaban, El Silk, & Tayel, 2011). Benzer şekilde, Shaaban ve ark.'larının yaptığı çalışmada, çörek otu ekstraktlarının stafilokokların insan epitel hücre adezyonunu engelleyen güçlü antiadezinler olduğu bildirilmiştir. Yapılan bir çalışmada trikomonyazisli hastalarda oral metronidazol ve intravajinal metronidazol tedavileri arasında fark görülmemiştir. Ağızdan alınan metronidazolün gastrointestinal yan etkileri belirgin olduğundan ağızdan alımın tolere edilemediği durumlarda vajinal ilaçlar daha etkili olabilir. Çörek otunun antiadezin olduğu göz önünde bulundurularak ileriki çalışmalarda çörek otunun vajinal tablet ve kremlerinin kullanılabilirliği düşünülmektedir.

Çörek otu yağının en önemli avantajlarından birisi kullanılan dozlarında toksik etkisinin olmamasıdır. Çörek otu su ekstraktlarının sıçanlara 14 gün verilmesiyle hiçbir toksite meydana getirmediği gösterilmiştir (Tennekoon, Jeevathayaparan, & Kurukulasooriya, 1991). Başka bir çalışmada da Al Homidan ve çalışma grubu (Al-Homidan vd., 2002) çörek otu tohumlarının civcivlere besin olarak verilmesinin güvenli olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca, sıçanlara intraperitoneal *N. sativa* çekirdeği ekstraktının (50 mg/kg) 5 gün süreyle uygulanmasının, hepatik ve böbrek fonksiyonu ile ilişkili çeşitli enzimlerin ve metabolitlerin

aktivitelerini önemli ölçüde etkilemediği görülmüştür. Yalnızca büyük miktarlardaki dozların uygulanması (2 g/kg veya daha fazla) solunumda hipo-aktiviteye ve zorluğa neden olmuştur (Badary, Al-Shabanah, Nagi, Al-Bekairi, & Elmazar, 1998). Bu çalışmada 72. saat sonunda saptanan MİK 500 µl/ml iken, MLK 1000 µl/ml'dir.

Sonuç

Şimdiye kadar yapılan çalışmalar incelendiğinde çörek otu ekstraktlarının ya da yağının tıbbi amaçlar için kullanıldığı görülmüştür. Bu çalışmada da çörek otu yağı, tedavisinde sıkıntılar yaşanan trikomoniyaz tedavisi için bir terapötik ajan olarak kullanılmış ve bu enfeksiyon için doğal önemli bir tedavi edici potansiyele sahip olduğu görülmüştür. Bundan sonraki çalışmalar için, hayvan modellerinde çörek otu yağının aktivitesinin test edilmesi ve aktivite eşliğinde izolasyon ve yapı tayini araştırmalarının yapılması planlanmıştır.

"Elde edilen sonuçlar ileriki çalışmalarda hayvan çalışmalarının yapılmasını işaret etmektedir"

Alana Katkı

Türkiye'den izole edilmiş *T. vaginalis* trofozoitlerine karşı çörek otu yağının anti-trikomoniyaz etkisi ortaya çıkarılmıştır.

Teşekkür

Trichomonas vaginalis trofozoitlerini temin ettiğimiz Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Ahmet Özbilgin'e teşekkür ederiz.

Çıkar Çatışması

Bu makalede herhangi bir nakdî/aynı yardım alınmamıştır. Herhangi bir kişi ve/veya kurum ile ilgili çıkar çatışması yoktur.

Kaynaklar

- Al-Homidan, A., Al-Qarawi, A.A., Al-Waily, S.A., & Adam, S.E. (2002). Response of broiler chicks to dietary *Rhizyospora* and *Nigella sativa*. *Br Poult Sci*, 43, 291–296.
- Aminou, H.A., Alam-Eldin, Y.H., & Hashem, H.A. (2016). Effect of *Nigella sativa* alcoholic extract and oil, as well as *Phaseolus vulgaris* (kidney bean) lectin on the ultrastructure of *Trichomonas vaginalis* trophozoites. *J Parasit Dis*, 40(3), 707–713.
- Badary, O.A., Al-Shabanah, O.A., Nagi, M.N., Al-Bekairi, A.M., & Elmazar, M.A. (1998). Acute and subchronic toxicity of thymoquinone in mice. *Drug Dev Res*, 44, 56–61.
- Bishara, S.A., & Masoud, S.I. (1992). Effect of *Nigella sativa* extract on experimental giardiasis. *New Egypt J Med*, 7, 1–3.
- El Wakil HS. (2007). Evaluation of in vitro effect of *Nigella sativa* aqueous extract on *Blastocystis hominis* isolates. *J Egypt Soc Parasitol*, 37(3), 801–813.
- Gökmen, A.A., Girginkardeşler, N., Kilimcioğlu, A.A., Şirin, M.C., & Özbilgin, A. (2016). *Trichomonas vaginalis*'in Metronidazol, Ornidazol ve Proton Pompa İnhibitörleri Pantoprazol ve Esomeprazole Karşı İn Vitro Duyarlılığı. *Mikrobiyol Bul*, 50(1), 133–139.
- Inceboz, T., Inceboz, U., & Öztürk, S. (2004). Comparative In vitro Cytotoxic Effects of Ornidazole, Metronidazole and Ciprofloxacin against *Trichomonas vaginalis* Trophozoites. *J Chemother*, 16(5), 459–62.
- Kaya, M.S., Kara, M., & Özbek, H. (2003). Çörek Otu (*Nigella Sativa*) Tohumunun İnsan Hücresel Bağışıklık Sisteminin CD3+, CD4+, CD8+ Hücreleri Ve Toplam Lökosit Sayısı Üzerine Etkileri. *Genel Tıp Derg*, 13(3), 109–112.
- Mona Abd El-Fattah, M.A., Mahmoud, A., Aminou, H.A.K., & Hashem, H.A. (2016). Are the fatty acids responsible for the higher effect of oil and alcoholic extract of *Nigella sativa* over its aqueous extract on *Trichomonas vaginalis* trophozoites. *J Parasit Dis*, 40(1), 22–31.

Özcel MA, Zeyrek FY. Trikomoniyaz. In: Özcel'in Tıbbi Paraziter Hastalıkları. Özcel A, Özbel Y, Ak M, eds. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayın No: 22. İzmir, 2007; s. 431–447.

Shaaban, M.T., El Silk, S.E., & Tayel, M.A. (2011). Efficiency of some plant extracts, carbohydrates and inorganic salts as anti-adhesion agents against the adhesion of *Staphylococcus* strains to HEp-2 cells. *Life Sci J*, 8, 1172–1182.

Tennekoon, K., Jeevathayaparan, S., & Kurukulasooriya, A. (1991). (Karunanayake. Possible hepatotoxicity of *Nigella sativa* seeds and *Dregea volubilis* leaves. *J Ethnopharmacol*, 31, 283–289.