

No: 6

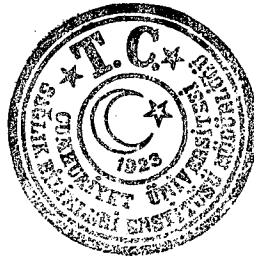
T. C.  
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

110

**PROTOZoonLARIN KÜLTÜRÜNDE SOYA FASULYESİNDEN  
HAZIRLANAN BESİYERLERİNİN KULLANIMI**

PARAZİTOLOJİ PROGRAMI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Semra ÖZÇELİK**



No: 6  
SAĞLIK BİLİMLERİ  
ENSTİTÜSÜ

AĞUSTOS — 1984

SİVAS



**“ Bu tez Cumhuriyet Üniversitesi Senatosunun 5/1/1984 tarih ve 84 / 1 nolu kararıyla kabul edilen tez yazma yönergesine göre hazırlanmıştır. ”**

## TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın gerçekleşmesinde büyük katkıları bulunan danışman hocam Sayın Doç. Dr. Gülendame SAYGI'ya, yardımlarını esirgemiyen Sayın hocalarım Prof. Dr. Muvaffak AKMAN ve Yard. Doç. Dr. Muharrem GÖKOĞLU'na teşekkürü bir borç bilirim.

## İÇİNDEKİLER

	<b>Sayfa</b>
I — GİRİŞ VE AMAÇ .....	7
II — GENEL BİLGİLER .....	9
III — GEREÇ—YÖNTEM .....	15
1. Cam Malzeme .....	15
2. Örnekler .....	15
3. Besiyerleri .....	16
4. Tampon Çözeltisi .....	17
5. Ekimlerin Yapılışı .....	18
6. Kültür Sonuçlarının Değerlendirilmesi .....	19
IV — BULGULAR .....	20
V — TARTIŞMA .....	30
VI — SONUÇ .....	38
VII — ÖZET .....	40
VIII — SUMMARY .....	41
IX — KAYNAKLAR .....	42

## T A B L O L A R

Tablo I — Dışkı örneklerinin ekildiği LES ve pirinçli KSB de saptanan bulgular .....	26
Tablo II — Dışkı örneklerinin ekildiği Pirinçsiz KSB ve Pirinçli SSB de saptanan bulgular .....	27
Tablo III — Sığır işkembe materyelinin ekildiği besiyerlerinde saptanan bulgular .....	28
Tablo IV — Fare sindirim sistemi materyelinin ekildiği - besiyerlerinde saptanan bulgular .....	29

## ŞEKİLLER

- Şekil 1 — Pirinçli katı soya besiyerinde üreyen  
E. histolytica trofozoitleri ..... 24
- Şekil 2 — Pirinçli katı soya besiyerinde üreyen bir başka  
suş E. histolytica trofozoitlerinin görünümü ..... 24
- Şekil 3 — Pirinçli katı soya besiyerinde sığır işkembesinden  
üretilen Acanthamoeba grubu amibin ve kistlerinin  
görünümü ..... 25
- Şekil 4 — Pirinçli katı soya besiyerinde fare duodenum ve  
çekumundan üretilen Tritrichomonas muris'in  
görünümü ..... 25

## G İ R İ Ő V E A M A Ć

Protozoonların kültürü, çeşitli besiyerlerinde protozoonun özelliklerine uygun olarak yapılmaktadır. Her protozoon için klasikleŐmiŐ besiyerlerinin kullanımı yanında, her geçen gün yeni, daha elverişli ve ekonomik besiyerleri de kullanıma girmektedir.

İyi bir kültür ortamı organizmanın beslenme, büyüme ve üreme gibi çeşitli fonksiyonlarını gerçekleŐtirmesine uygun olmalıdır.

Soya fasulyesinden hazırlanan besiyerleri, mikrobiyolojik çalışmalarda uzun yıllardan beri kullanılmaktadır. Mikrobiyolojide bakteri ve mantarların üretilmesinde, besinlerin mikrobiyolojik kontrolünde bu tür besiyerlerinin kullanımı artık rutin iŐlemlere girmiŐtir (5, 18).

Bilindiği gibi soya fasulyesi besleyici değeri oldukça yüksek bir bitkidir. Kapsadığı protein ve yağ miktarı, türüne, yetiştiği yere ve daha başka koŐullara göre deđiŐmektedir. Ortalama %50 protein içeren soya unu oldukça ucuz bir protein kaynağıdır. Soya ununun 1 kilosunun fiyatı ülkemizde 9 lira, saf proteinin kilosunun fiyatı da 20 lira civarındadır. Bu fiyatların, %20 protein içeren siğir eti fiyatları ile karŐılaŐtırıldıđında çok ucuz olduğu görülmektedir (11).

Bugüne kadar soya fasulyesinden hazırlanan besiyerlerinde protozoonların kültürlerini yapıldığını gösteren herhangi bir yayına rastlamadık. Bakteriyoloji ve Mikolojide gittikçe geniş kullanım alanı bulan soyalı besiyerlerinin Protozoolojide de denenmesi gerekir diye düşündük. Bu nedenle de çalışmamızda, gerek parazit gerekse parazit olmayan çeşitli protozoonların kültüründe soya fasulyesinden hazırladığımız besiyerlerini kullanıp kullanamayacağımızı araştırdık.



## GENEL BİLGİLER

Bakteriyoloji ve protozoolojide kullanılan besiyerleri, üretilmek ya da kültürü yapılmak istenen organizmaya göre değişik yapıdadırlar. Bunlardan bir kısmı rutin amaçlarda kullanılmak üzere hazırlanan ve temel besin maddelerini içeren besiyerlerdir. Bu tip besiyerleri fazla özellik taşımadıkları halde, diğerleri karmaşık madde ve özellikleri bir arada içerirler. İkinci tip besiyerleri daha çok kültürü yapılan organizmaların biyokimyasal özelliklerini saptamada kullanılır.

Rutin olarak kullanılan besiyerlerinde temel madde olarak karbon ve azot kaynağı olan organik maddeler yanında, sodyum, fosfor, kükürt, demir, potasyum gibi anorganik maddelerde bulunmalıdır. Katı ve yarı katı ortamlar için agar gibi katılaştırma maddeleri eklemek gereklidir. Kültürlerde kolay üremeyen mikroorganizmaların üretiminde kullanılan besiyerlerinde temel maddelere ek olarak aminoasitler ve vitaminler gibi büyüme faktörlerine de gereksinim vardır (4, 5, 20).

Besiyerlerindeki organik madde gereksinimi protein ve karbonhidratlarla sağlanır. Bunlar bitkisel ve hayvansal kaynaklı olabilir. Hayvansal kaynaklar arasında et, balık, kazein, jelatin, keratin sayılabilir. Bitkisel kaynaklar arasına ise yer fıstığı unu, soya unu, pamuk tohumu, ayçiçeği tohumu bu'unur. Bazen de belirli mikroorganizmalar besiyerlerinde protein kaynağı olarak kullanılır (20).

Yurdumuzda mikrobiyoloji rutin laboratuvarlarında hazırlanan besiyerleri döviz karşılığı yurt dışından ithal edilerek hazırlanmaktadır. Gerek sağlık ve gıda kontrollerinde gerekse eğitim faaliyetlerini sürdüren üniversite, hastane ve çeşitli sağlık ve araştırma kuruluşlarının kullandıkları besiyerlerinin miktarları düşünülürse, bunun ekonomimize getirdiği yük daha iyi anlaşılır. Ülkemiz koşulları gereği son yıllarda doğan zorunluluklar da araştırmacıları bu konuda araştırmaya itmektedir.

Yurdumuzda 1950 yılından başlayarak özellikle bakteriyoloji alanında yeni besiyerleri denenmiştir. Örneğin vinas, melas, fabrika artığı bazı besin maddeleri, soya, ayçiçeği, balık ve pamuk tohumu küspeeri gibi çeşitli maddeler araştırmacılar tarafından yeni besiyerleri hazırlamada denenmiş ve böylece bu konuda dışa bağımlılığın ortadan kaldırılmasına çalışılmıştır (1, 11, 20).

Ayrıca defibrine sığır kanı, pankreasla hazmettirilerek veya doğrudan kullanılarak ya da pişirilmek suretiyle besiyerleri hazırlamada kullanılmıştır (5, 17).

Balık hidrolozi ile de besiyerleri hazırlanmış ve rutin çalışmalarda gram negatif bağırsak bakterilerinin tanısında başarıyla kullanılmıştır (21).

Mikrobiyoloji'de ilk defa soyadan besiyeri hazırlayan ve kullanan Didlak Marie (1905) dir. Daha sonra Kata (1914) bu tip besiyerlerini kullanmıştır (16).

Protein oranı yüksek ve çok değerli besleyici özellikleri bulunan soya, mikroorganizmaların üreme ortamı olarak son derece elverişlidir ve bakteriyolojik besiyerlerinin yapımında kullanılmaktadır.

Soya fasulyesi (*Glicina hispina*) baklagiller familyasından bir çok türü bulunan bir bitkidir. Kuzey Çin, Japonya ve Hindistan'da çok eskiden beri yetiştirilmektedir. Protein ve yağ bakımından oldukça zengin bir besin maddesidir. Türüne ve yetiştiği yere göre kimyasal içeriği değişiklik gösterebilir. Genel olarak soyada ortalama %40.5 (%24 den %60a kadar) protein, %19.5 (%14 ila %25) yağ, %29 ekstraktif azotsuz maddeler %5 selüloz ve %6 mineral maddeleri bulunmaktadır. Nişasta miktarı diğer baklagillere kıyasla çok azdır. Bu yüzden diyabetliler için değerli bir gıda maddesidir (16).

Soyada ayrıca, A, B, C, D, E vitaminleri ve sistin triptofan, methionin, arginin, histidin, lizin, treonin, alanin, tirozin, valin, izolösin, fenilalanin, lösin, sistein gibi aminoasitler bulunur. Bunlardan başka, allantoinaz, amilaz, askorbikaz, ko-enzim Q, sitokrom C, glikosidaz, heksokinaz, laktik dehidrogenaz, peroksidaz, fosfataz, fosforilaz, transaminazlar, üreaz ve ürikaz gibi enzimler de bulunur. Üreaz soyada çoktur, bu yüzden soyanın sulandırılmış şekli kanda ve idrarda ürenin varlığını ortaya çıkarmak için reaktif tarzında kullanılır (5, 16).

Çetin ve arkadaşları yaptıkları bir araştırmada *Propionibacterium freundenreichii* suşu ile B<sub>12</sub> vitaminini fermantasyonla elde etmek için en iyi verimi soya fasulyesi küspesi ile hazırladıkları besiyerlerinden sağladıklarını bildirmişlerdir (6).

Son yapılan araştırmalardan bir diğerinde de Çetin ve arkadaşları soya fasulyesi ve küspesinden hazırladıkları çeşitli besiyerlerinde *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Haemophilus parahaemolyticus*,  $\alpha$ -hemolitik streptococcus ve çeşitli gram pozitif basillerin üremelerini incelemişler ve olumlu sonuçlar almışlardır (5).

Yurdumuzda mikrobiyoloji alanında yapılan bu çeşit araştırmalarda soya fasulyesinden hazırlanan besiyerlerinde genellikle bakterilerin üretimi denenmiştir. Bu tür besiyerlerinde parazitlerin üremeleri üzerinde çalışma yapıldığına dair herhangi bir yayına rastlayamadık. Ancak, gerek parazit gerekse parazit olmayan protozoonların bir çoğunun çeşitli besiyerlerinde kültürleri yapılmıştır.

Çalışmamızda kullandığımız protozoonlardan *Entamoeba histolytica*'nın kültüründe en çok kullanılan ortam Boeck ve Drbohlav'ın 1925 de uygulamaya koyduğu Locke-egg-serum (LES) ortamıdır ve Locke solüsyonu, yumurta ve serum fizyolojik içerir. Aynı araştırmacılar ayrıca Locke egg-albumin (LEA) ortamını da *E. histolytica*'nın kültüründe kullanmışlardır. Bu ortamda, Locke-solüsyonu, insan serumu ve kristalize yumurta albumini bulunur (8, 10, 13, 19).

Daha ileriki yıllarda *E.histolytica*'nın kültürü için yeni ortamlar uygulandı. 1967 de Neal, 1968 de Taylor ve Baker monoksenik( monoxenic) ve aksenik (axenic) ortamlar hazırlamışlardır. Bu arada Diamond 1967 de aksenik bir ortam, 1968 de de TP-S-I adlı sıvı bir ortamı hazırlamıştır. TP-S-I ortamı, trypticase, panmede, glukoz, L-cysteine monohidroklorid, askorbik asit, sodyum klorid, potasyum fosfat-monobazik, potasyum fosfat-dibazik, distile su, inaktive at serumu ve vitamin karışımı içerir. Diamond yine 1968 de bu ortama benzerlik gösteren TTP-S, TTY-SB, TTY-6 ortamlarını da uygulamaya koymuştur (13, 19).

*Trichomonas*'ın kültüründe kullanılan ortamlar protozoonun türüne göre çeşitlilik gösterir. Çalışmamızda fare duodenumundan örnek aldık. Literatürde farelerde varlığı bildirilen *Trichomonas* türü *Trichomonas muris*'dir (13). Bu türün kültürünün yapıldığı ortamlar hakkında ayrıntılı bilgilere rastlıyamadık.

Çalışmamızda kullandığımız protozoonlardan *Chilomastix mesnili*'nin kültürü için de birçok besiyeri denenmiştir. Örneğin Hogue 1921 de sıvı Locke solüsyonu ve yumurta ortamını (Liquid Locke-Egg-Medium) kullanmıştır. 1940 yılında Jirovec ve Rodova'nın kullandığı Ringer solüsyonu ve serum ortamı (Ringer-serum-medium); Ringer solüsyonu ve at serumu içerir. 1936 yılında Westphal monofazik sıvı bir ortam önermiştir. 1947 yılında ise Wenrich, Loeffler Serum Ringer ortamı (Loeffler serum-

Ringer medium) nu bildirmiştir. Hogue 1933 de (Serum water-saline-medium) nu, Hibler 1960 da (Cecal extract serum mediumu) nu hazırlamışlardır (13, 19).

*Giardia intestinalis*'in kültürü için ilk tanımlanan besiyeri ise Karapetyan'ın hazırladığı besiyeridir (Medium No: 1). Araştırmacı bu ortamda Hank's tuz solüsyonu, civciv embriyo özeti, inaktive insan veya at serumu ve et özeti kullanmıştır. 1971 de Soloviev ve arkadaşları bu ortama jelatin ekliyerek ve serum konsantrasyonunu daha düşürerek yeni bir ortam hazırlamışlardır. Daha sonra aynı araştırmacılar, ortamdaki civciv embriyo özeti kaldırarak bunun *Giardia intestinalis*'in büyümesinde rol oynamadığını ortaya koymuşlardır (13).

1970 de Meyer aynı protozoonun kültürü için M-3 besiyeri adında karmaşık bir ortam, 1976 da da olumlu sonuç aldığı HSP-1 besiyeri adlı diğer bir ortam bildirdi (13, 19).

İşkembe protozoonlarının kültürü oldukça zordur. Bunların kültürü için tuz solüyonları (ki bunların çeşitli tipleri vardır; örneğin Hungate, Coleman, Caudatum, Simplex tipleri gibi), işkembe sıvısı, kuru ot tozu, nişasta (pirinç veya buğday), gaz ( $CO_2$  ve %95  $N_2$  + %5  $CO_2$ ) kullanılmıştır (19).

Araştırmacılar çeşitli işkembe protozoonları için bu maddelerden belirli oranlarda kullanarak farklı besiyerleri hazırlamışlardır (19).

## GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızda aşağıda belirtilen araç, gereç ve örnekler kullanılmıştır:

**I - Cam malzeme :** Besiyerlerinin hazırlanmasında ve kültürlerin incelenmesinde başta kültür tüpleri (16-1.5 cm) olmak üzere, balon, erlenmayer, lam, lamel gibi normal laboratuvar malzemesi kullanıldı. Tüpler ve balon gibi malzemeler iyice yıkandıktan sonra damıtık suyla çalkalandı, pamuklandı ve pastör fırınında 175°C de 1 saat steril edildikten sonra kullanıldı.

**II - Örnekler :** Kültür çalışmalarımızda Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Parazitoloji rutin laboratuvarımıza gelen hastalardan sağlanan dışkı örneklerini kullandık.

Bu örneklerin numaraları ve kendilerinde mikrobiyolojik incelemeler sonucu saptanan protozoon türleri şunlardır:

- a) Örnek 1, 3, 4, 5, 6, 7, 8 ve 10 da sadece Entamoeba histolytica kistleri, örnek 2 de E.histolytica kistlerine ek olarak Giardia intestinalis kistleri, örnek 9 da ise yine E.histolytica'ya ek olarak Chilomastix mesnilli trofozoitleri vardı.
- b) Sivas mezbahasından elde ettiğimiz sığır işkembesindeki kamçılı ve kirpikli protozoonlar,
- c) Deney hayvanı olarak kullandığımız farelerin duodenum ve çekumlarındaki Tritrichomonas trofozoitleri örnek olarak kullanıldı.

**III - Besiyerleri ;** Parazitoloji rutin laboratuvarımıza gelen hastalardan sağlanan dışkı örneklerini hazırladığımız besiyerlerine ektik. Besiyerleri aşağıda verildiği şekilde hazırlandı.

**1. Soya fasulyesinden besiyerlerinin hazırlanışı ;** Mersin'den getirttiğimiz soya fasulyesinden katı ve sıvı soya olmak üzere 2 tip besiyeri hazırladık.

**A — Katı Soya Besiyeri (KSB) :**

— 200 gm soya fasulyesi ıslatıldı; 120°C de 20 dakika süreyle otoklav veya düdüklü tencerede pişirildi. Sonra tel süzgeçten ezilerek süzüldü ve süzüntüye 1 lt damıtık su eklendi.

— Tekrar gazlıbezden ve süzgeç kağıdından birkaç kez süzüldükten sonra serum fizyolojik (kondu (1:3), pH 7,2 ye ayarlandı.

— Elde edilen süspansiyona %1.5 oranında agar eklenip otoklavda steril edildi. Otoklavdan çıkarılınca soğumadan tüplere dağıtıldı ve tüpler 30° lik yatıklıkta donmaya bırakıldı.

— Daha sonra tüplere steril koşullarda aşağıda belirtilen steril tampon çözeltisinden 5 er cc eklendi.

Her tüpe ekimden önce 3-4 adet steril pirinç tanesi kondu.

**B — Sıvı Soya Besiyeri (SSB) :**

Katı Soya besiyeri gibi hazırlandı, fakat agar eklenmedi. Tüplere dağıtıldıktan sonra her bir tüpe 5 er cc tampon çözelti ve 3-4 adet steril pirinç tanesi eklendi.



**2. LES (Locke-egg-serum) besiyeri** . (Boeck ve Drbohlov'ın modifiye edilmiş difazik ortamı) (8, 10, 13, 19):

Bu besiyeri özellikle *E.histolytica*'nın kültüründe kontrol amacıyla kullanılmıştır.

— Dört tavuk yumurtası 50 cc Ringer solüsyonuyla süspansiyon haline getirildi.

— Süspansiyon kalın bir tülbent veya birkaç katlı gazlı bezden birkaç kez süzüldü.

— Daha sonra 5 ml halinde tüplere dağıtıldı ve 30° - 45° lik bir yatıklıkta, otoklavda, 80°C ye kadar çıkan ısıda katılaştırıldı.

— Her tüpe yaklaşık 5 cc fosfat tamponlu serum fizyolojik veya normal serum fizyolojik eklendi.

Tüpler 20 dakika 121°C de sterilize edildi ve soğuduktan sonra her tüpe 3-4 adet steril pirinç tanesi eklendi.

— Kullanılincaya kadar buzdolabında saklandı ve ekimden önce benmaride 37°C ye kadar ısıtıldı.

**IV — Tampon Çözeltisi** : Kültür çalışmalarımızda kullandığımız besiyerlerinin hazırlanışında aşağıdaki tampon çözelti steril edildikten sonra kullanılmıştır.

Fosfat tamponlu serum fizyolojik (pH: 7.0) (8,10,13,19) .

% 0.85 lik serum fizyolojik	.....	450cc
M / 15 $\text{KH}_2\text{PO}_4$	.....	19cc
M / 15 $\text{Na}_2\text{HPO}_4$	.....	31cc

M / 15  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  ün hazırlanışı :

$\text{KH}_2\text{PO}_4$	.....	9.07 gram
Damıtık su	.....	1000 cc

M / 15  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  ün hazırlanışı :

$\text{Na}_2\text{HPO}_4$	.....	9.46 gram
Damıtık su	.....	1000 cc

**V — Ekimlerin Yapılışı :** Esas çalışmamıza geçmeden önce

bir ön çalışma yapıp, soyadan hazırladığımız besiyerlerimizin özellikle E.histolytica'nın kültürü yönünden sonuç verip vermiyeceğini araştırdık. Bu araştırmamızdan olumlu sonuç alınca çalışmalarımıza aşağıda belirtilen ekimlerle devam ettik.

**A — Dışkı Örneklerinden Ekimler :** Direkt mikroskopik incelemede protozoon kistleri görülen 10 dışkı örneği ayrı ayrı hem pirinçli katı soya besiyerine hem de LES'e ekildi. 1-5 numaralı örneklerden aynı zamanda pirinçsiz katı soya ve pirinçli sıvı soya besiyerlerine de ekim yapıldı. Ekimden önce besiyeri bulunan tüplere steril koşullarda bakteri üremesini baskılamak için, 1000 Ü/ml olacak şekilde Penicillin G eklendi. Ekim yapılan tüpler 37°C lik etüvde inkübe edildiler.

Dışkı örnekleri herhangi bir işleme tabi tutulmadan öze ile doğrudan besiyerlerine ekildi. Ön çalışmamızda hem dışkıdan direkt hem de LES besiyerinde aktif hale geçmiş trofozoitlerden ekimler yapıldığında her iki ekimde de soyalı besiyerlerinde olumlu sonuç alındığından bu şekilde ekime devam edildi.

**B — İşkembe Materyalinden Ekimler :** Sivas mezbahasından sağladığımız siğir işkembesindeki kamçılı ve kirpikli protozoonlardan, pirinçli katı soya besiyerine ve kontrol için de LES besiyerine (2 şer tüp) ekim yapıldı ve yine 48 saatlik bir inkübasyondan sonra sonuçlar değerlendirildi.

**C — Fare Sindirim Sistemi Materyalinden Ekimler :** Fare duodenum ve çekumlarından elde ettiğimiz Tritrichomonaslı materyelden pirinçli katı soya besiyerine ve LES besiyerine (2 şer tüp) ekim yapıldı ve sonuçlar incelendi.

**VI — Kültür Sonuçlarının Değerlendirilmesi :** Yukarıdaki materyellerden yapılan kültürler 48-72 saatlik aralarla kontrol edildi ve gerektiğinde yeni besiyerlerine pasaj yapıldı. Kültürlerin okunması için her bir kültür tüpünden steril koşullarda örnek alındı ve protozoonun üreyip üremediği mikroskop altında araştırıldı. Gerekli kontroller yapıldıktan sonra her bir tüpten yeni besiyerlerine 1-2 cc aktarılarak pasaj yapıldı. İnokülasyon miktarının bu kadar fazla oluşu özellikle E.histolytica'nın gereksinme duyduğu anaerobik ortamın ko'ayca sağlanması içindi.

## B U L G U L A R

Ön çalışmamızda elimizdeki örnekler öncelikle LES besiyerine ekilerek durumları gözlemlendi. E.histolytica kistlerinin bulunduğu dışkı örnekleri hiç bir işleme tabi tutulmadan direkt olarak LES besiyerine ekildiğinde kültürlerde 48-72 saat sonra canlı E.histolytica trofozoitleri görüldü.

Katı ve sıvı soya besiyerlerine E.histolytica kistleri saptanan dışkılarından direkt ekimin yanında LES besiyerinde üreyen trofozoitlerden de ekimler yapmamızın amacı bu besiyerlerinde E.histolytica kistlerinin açılıp açılmadığını araştırmak ve trofozoitleri gözlemektir.

İncelemelerimizde her iki durumda da soyalı besiyerlerinde canlı trofozoitler gözlemlendi. Bu yüzden esas çalışmamıza başladığımızda ekimleri dışkılarından direkt olarak yaptık.

E.histolytica kistlerini içeren 10 dışkı örneğinin LES besiyerinde yapılan kültürlerinde biri hariç (Örnek 10) hepsinde ekim tüplerinde aktif E.histolytica trofozoitleri gözlemlendi. Her örnekten üretilen E.histolytica trofozoitleri ayrı bir suş olarak tanımlandı. Ekim tüpünden yapılan birinci kör pasajda negatif olan onuncu örnekte de trofozoitler görüldü.

LES besiyerinde 10 örnekten yapılan kültür ve pasajların sonuçları tablo I de gösterilmiştir.

LES besiyerine ekildiği şekilde, pirinçli katı soya besiyerine de ekilen 10 örnekle elde edilen bulgular Tablo 1 de verilmiştir. Bu besiyerinde de biri hariç (örnek 3) her bir dışkı örneğinden ekim tüpünde üreme

olmuş ve bu üreme pasajlarla devam ettirilmiştir (Şekil 1 ve 2). Ekim tüpünde üreme gözlenememiş olan örnek 3 den yapılan birinci kör pasajda aktif hareketli E.histolytica trofozoitleri görülmüştür.

Tablo II de pirinçsiz KSB ve pirinçli SSB'ne yapılan ekimlerde elde edilen bulgular verilmiştir. Bu besiyerlerine başta da belirtildiği gibi 10 örnekten sadece beşinden ekimler yapıldı.

Pirinçsiz katı soya besiyerine yapılan beş ekimden sadece ikisinde ekim tüpünde E.histolytica trofozoitleri gözlemlendi. İlk ekim sonucu böyle olmasına karşın daha sonra yapılan pasajların incelenmesinde beş örnekteki E.histolytica kistleri pirinçsiz katı soya besiyerinde de açılmış ve trofozoit haline geçmişlerdir.

Pirinçli sıvı soya besiyerine yapılan beş ekimin biri hariç (örnek 2) dördünde de E.histolytica trofozoitleri görüldü. Fakat örnek ikinin yapılan pasajlarında da herhangi bir trofozoit üremesi görülmedi.

Kültürlerin incelenmesinde saprofit mantarların varlığı veya aşırı bakteri üremesi saptandığında sonuç kontaminasyon olarak değerlendirildi. Bu kontaminasyonlar besiyerlerine ekilen örneklere başlangıçta hiçbir işlemin uygulanmamış olmasına bağlı olabilir.

LES besiyerine fare duodenum ve çekumundan elde ettiğimiz canlı trofozoit halindeki çeşitli protozoonlar (Tritrichomonas, Giardia ve amipler) ekildiğinde 48-72 saat sonraki kontrollerde olumsuz sonuçlar elde edildi. Aynı örnekler pirinçli katı soya ve pirinçli sıvı soya besiyerine

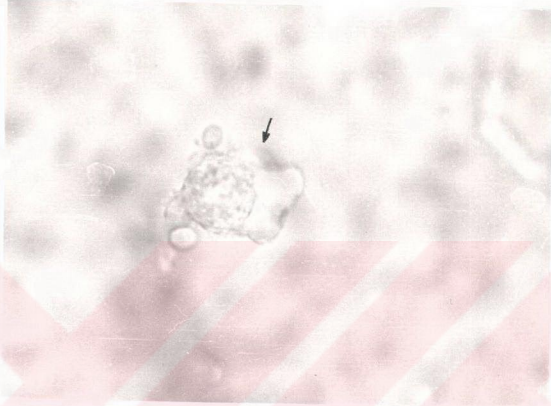
ekildiğinde özellikle pirinçli katı soya besiyerinde aktif hareketli *Tritrichomonas* trofozoitleri gözlemlendi.

Katı ve sıvı soya besiyerlerine *Giardia intestinalis* kistleri içeren dışkılarından direkt ekim yaptığımızda kistlerin 4 pasaj süresince (9 gün) morfolojik olarak bozulmadan kaldıkları fakat trofozoit haline dönüşmedikleri görüldü.

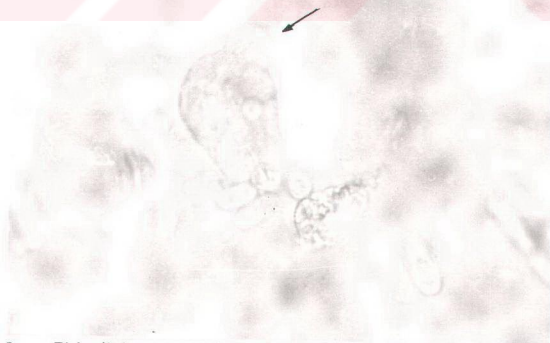
LES, pirinçli KSB ve SSB'inde *Chilomastix* mesnili kistleri ve trofozoitleri ancak kısa bir süre pasaj yapılarak incelenebildi. *Chilomastix* mesnili kistleri bu besiyerlerinde açılmadılar. Fakat aktif trofozoit şeklinde ekim yapıldığında bu protozoon soyalı besi ortamlarında 3 pasaj (yaklaşık 7 gün) canlı kaldı.

Sığır işkembesinden elde ettiğimiz kirpikli ve kamçılı protozoonlar hem LES besiyerine hem de soyalı besiyerlerine direkt olarak ekildi. Aynı materyelde amip trofozoitleri de bulunmaktaydı. LES besiyerinde ürememelerine karşın soyalı besiyerlerinde bu kamçılı ve kirpikli protozoonlar 2 pasaj (yaklaşık 4 gün) hareketli olarak göründüler sonra hareketleri durdu. Amip trofozoitleri ise her 48 saat de bir pasaj yapılarak yaklaşık 3 hafta süreyle izlendiler ve bu süre içinde her kültürde canlı trofozoitler gözlemlendi (Tablo III). Bu amiplerin soyalı besiyerlerinde iyi bir şekilde üredikleri ve kist oluşturdıkları gözlemlendi. Kist morfolojilerine göre bunlar *Acanthamoeba* grubu amipler olarak tanımlandı (Şekil 3).

Tritrichomonas içeren fare duodenum ve çekum materyali LES, pirinçli katı soya besiyerine ve pirinçli sıvı soya besiyerine ekildiğinde, LES besiyerlerinde Tritrichomonos trofozoitleri gözleyememimize karşın özellikle pirinçli katı soya besiyerlerinde olumlu sonuçlar aldık. Pirinçli katı soya besiyerindeki trofozoitler şekil 4'de görülmektedir. Pirinçli sıvı soya besiyerinde ise olumlu sonuç alınamadı. Bu çalışma ile ilgili sonuçlar Tablo IV de verilmiştir.

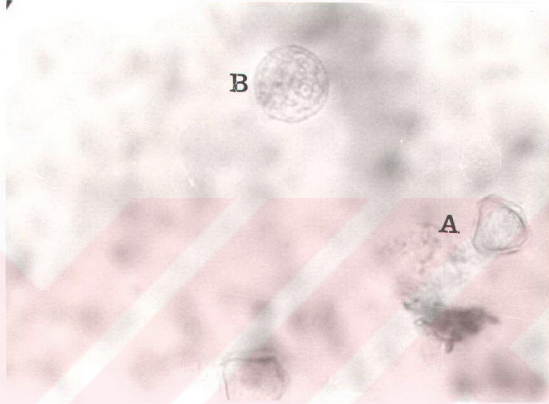


Şekil 1 — Pirinçli Katı soya besiyerinde üreyen Entamoeba histolytica trofozoiti (ekto ve endo-plazmanın bariz olarak ayrılması okla gösterilmiştir).

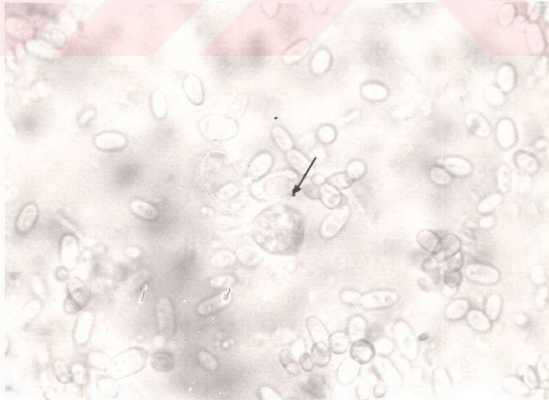


Şekil 2 — Pirinçli katı soya besiyerinde üreyen bir başka suş Entamoeba histolytica trofozoitinin görünümü (ok yalnız ayağı göstermektedir).





**Şekil 3** — Pirinçli katı soya besiyerinde sığır işkembesinden üretilen *Acanthamoeba grubei* grubu amibin ve kistlerinin görünümü. A- Kist, B- Trofozoit



**Şekil 4** — Pirinçli katı soya besiyerinde fare duodenum ve çekumundan üretilen *Tritrichomonas muris*'in görünümü.

Tablo I — Dışkı Örneklerinin Ekildiği LES ve P.KSB Besiyelerinde Saptanan Bulgular.

Besiyeleri	Örnekler										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
LES	Ekim	E	E+G	E	E	E	E	E	E	E+C	—
	P <sub>1</sub>	E	E+G	E	E	E	E	E	E	E+C	E
	P <sub>2</sub>	E	E+G	K	E	E	E	E	E	E+C	K
	P <sub>3</sub>	E	E+G	K	E	E	E	E	E	E+C	E
	P <sub>4</sub>	K	K	K	K	E	E	E	E	E+C	E
P <sub>5</sub>	E	E	K	K	E	E	K	E	E+C	E	
Prinçli KSB	Ekim	E	E+G	E	E	E	E	E	E	E+C	E
	P <sub>1</sub>	E	E+G	E	E	E	E	E	E	E+C	E
	P <sub>2</sub>	E	E+G	K	E	E	E	K	E	E	E
	P <sub>3</sub>	E	E+G	—	E	E	E	K	E	E	E
	P <sub>4</sub>	K	K	E	K	E	E	K	E	E	E
P <sub>5</sub>	K	K	K	K	E	E	K	E	E	E	

E : Entamoeba histolytica trofozoitleri görülenler

G : Giardia intestinalis trofozoitleri görülenler

P : Pasaj

K : Kontaminasyon

(—) : Üreme görülmemeler.

C : Chi'omastix mesnili trofozoitleri görülenler.

Tablo II — Dışkı örneklerinin Ekildiği Pirinçsiz KSB ve P.SSB Besiyerlerinde Saptanan Bulgular.

	Örnek	1	2	3	4	5
	Pasaj					
Pirinçsiz KSB	Ekim	E	E+G	—	—	—
	P <sub>1</sub>	E	E+G	K	E	E
	P <sub>2</sub>	E	E+G	E	E	E
	P <sub>3</sub>	E	G	K	E	E
	P <sub>4</sub>	K	K	K	K	E
	P <sub>5</sub>	E	K	K	K	K
	Pirinçli SSB	Ekim	E	G	E	E
P <sub>1</sub>		E	G	E	E	E
P <sub>2</sub>		E	G	K	E	E
P <sub>3</sub>		E	G	K	E	E
P <sub>4</sub>		K	K	K	K	E
P <sub>5</sub>		E	K	K	K	K

E : Entamoeba histolytica trofozoitleri görülenler

G : Giardia intestinalis trofozoitleri görülenler

P : Pasaj

K : Kontaminasyon

(—) : Üreme görülmeyenler.

Tablo III — Sığır İşkembe Materyalinin Ekildiği Besiyerlerinde Şaptanan Bü'gular.

Pasaj Besiyerleri	Ekim Tüpü	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Pirinci KSB	K+A	K+A	K+A	A	A	A	A	A	A	A
LES	K	—	—	—	—	—	—	—	—	—

K : Kırıklı ve Kamçılı protozoonlar yönünden pozitif

A : Amip yönünden pozitif

(—) : Üreme görülmemeler.

Tablo IV— Fare Sindirim Sistemi Materyelinin Eklidiği Besiyerlerinde Saptanan Bulgular.

Pasaj Besiyerleri	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
LES	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Pirinçli KSB	T	T	T	T	T	T	T	K	—	—
Pirinçli SSB	T	T	K	—	—	—	—	—	—	—

T : Tritrichomonas muris trofozoitleri görülürler

K : Kontaminasyon

(—) : Üreme görülmemeyenler.

## T A R T I Ő M A

Başta protozoonlar olmak üzere parazitlerin kùltùrleri üzerindeki çalışmalar özellikle son yıllarda yoğunluk kazanmıştır. Bunu Taylor ve Baker'in editörlüğünü yaptıkları ve parazitlerin in vitro kùltür yöntemleriyle ilgili yapıtlarını on yıl arayla yenilemelerinden ve diğer yayınlarından da izlemek olasıdır (1-7,13,17-22). Araştırcıların bu yöndeki çalışmaları sonucu hem sıtma parazitleri gibi protozoonların kùltürü gerçekleşmiş ve hem de birçok yeni kùltür ortamları (besiyerleri) geliştirilmiştir (19, 22).

Bilindiđi gibi herhangi bir parazitin kùltürünü yapmanın amacı çok yönlüdür. Faust ve Russell'a göre bu amaçlar aşağıdaki noktalarda toplanır (10).

1. Hastalık etkeninin kesin tanısına gitmek amacıyla diğer yöntemlere ek olarak ya da yalnız olarak kùltür yöntemine bař vurulur.
2. İmmunolojik çalışmalarda kullanılan antijenleri bol miktarda hazırlamak amacı ile etkenin kùltürüne çalışılır.
3. Klinik materyelin kolayca sağlanamadığı ya da yeterli olmadığı durumda öğretimde kullanmak amacı ile kùltür yapılması istenir.
4. Deney hayvanlarının inokülasyonunda kullanılacak bir kaynak sağlamak için etkenin kùltürü yapılır.
5. Kùltür yöntemleri in vitro ilaç denemelerinde de yararlıdır.
6. Organizmaların fizyolojilerini incelemek için de onların kùltürlerine çalışılır.

Kültür çalışmalarının parazitlerin biyokimyasal ve patojenitelerinin aydınlatılmasında da yararlı olduğu açıktır.

Kültür çalışmalarında başlangıçta paraziti in vitro ortamda üretmeyi başarmak ve bu iş için elverişli ortamı bulmak esastır. Fakat ileri aşamalarda amaç in vitro olarak paraziti aksenik ve tam anlamda yapay bir ortamda üretebilmektir. Çünkü biyokimyasal özellikleri ve patojenite deneyleri için bu tip kültür idealdir.

Fakat her zaman aksenik kültürü yapmak olası değildir. Aksenik kültürleri elde edebilmek için fiziksel ve kimyasal yöntemlerin (örneğin bulaşlı materyeli defalarca steril izotonik solüsyonlarda yıkamak, santrifüj etmek v.b.) yanında mikro-izolasyon yöntemleri de kullanılmaktadır. Ayrıca, besiyerlerine antibiyotikler eklemek veya ekimden önce örnekleri hidroklorik asitle muamele etmek gibi yollar da izlenebilir.

Tek hücreli parazitler arasında kültürü üzerinde en fazla çalışma yapılanlardan biri hiç şüphesiz E. histolyticadır. Locke solüsyonu, yumurta ve serumdan oluşan difazik LES besiyeri bu parazitin kültüründe kullanılan klasik bir ortamdır. LES kadar yaygın kullanılmamış olsa da yine klasik besiyerlerinden sayılan LEA da (Locke solüsyonu, yumurta ve albumin) bu tip bir kültür ortamıdır (8, 10, 13, 19). Faust tarafından LES besiyerleri modifiye edilerek yani Locke yerine Ringer solüsyonu konularak kullanılmıştır (8, 10).

Çalışmamızda soya fasulyesinden hazırladığımız besiyerlerini protozoonların kültüründe kullanıp kullanamayacağımızı araştırdık. Bu amaçla özel olarak getirttiğimiz soya fasulyesinden bakteriyolojik ve

mikolojik çalışmalarda kullanılan besiyelerine benzer ortamlar hazırladık.

Hazırladığımız bu besiyelerinde üreyip üremediğini araştırmak için de parazitik protozoon olarak *E.histolytica*'yı seçtik. Çünkü bu parazit ürettiği LES besiyelerini Faust'un modifiye ettiği şekliyle laboratuvarımızın olanaklarıyla hazırlamamız ve tanık besiyeri olarak kullanmamız olasıydı.

Soyadan hazırladığımız besiyelerini önce katı ve sıvı diye ikiye daha sonra da herbirini kendi aralarında pirinç tanesi eklenip eklenmemesine göre pirinçli ve pirinçsiz diye tekrar ikiye ayırdık. Sonuçta elimizde 4 tip besiyeri oluştu. Bunlardan katı soya besiyeri difazik bir ortam olması nedeniyle LES besiyerine benzemektedir. Halbuki SSB monofaziktir.

LES besiyeri Locke solüsyonu, yumurta ve serum içerirken, soyadan hazırladığımız besiyelerinin temeli soya fasulyesi ve fosfat tamponlu serum fizyolojiktir. Bu ortama KSB de agar eklenmiştir.

Ön çalışmalarımızda *E.histolytica* kistlerinin bulunduğu dışkı örneklerinden ekim yapılan LES besiyerinde bu parazitin trofozoit durumuna geçtiğini saptadık. Aynı örneklerden direkt ekim yapılan KSB ve SSB de de bu parazitin trofozoitleri görüldü. *E.histolytica* trofozoitlerinin bu'unduğu LES besiyelerinden KSB ye yapılan pasajlar sonunda da bu besiyerinde parazitin ürettiği saptandı. Bu nedenle de daha sonraki



çalışmalarda soyalı besiyerlerine E.histolytica kistleri bulunan dışkı örneklerinden direkt ekimler yaptık.

E.histolytica kistlerini içeren dışkıların pirinç içeren soyalı besiyerlerine ekiminde ekim yapılan tüplerin biri hariç hepsinde bu parazitin saptanması kanımızca çok anlamlıdır. Çünkü bu bize denediğimiz besiyerlerinden özellikle pirinçli KSB'nin kist veya trofozoit halinde E.histolytica bulunan dışkıdan parazitini izolasyonu için elverişli olduğunu göstermektedir. Sadece tek ekim tüpünde E.histolytica trofozoitlerinin görülmemesi fakat yapılan pasajda görülmemesi kanımızca bir gözlem hatasından kaynaklanmaktadır.

Çalışmamızda hem olanaklarımız hem de süremiz kısıtlı olduğundan maalesef soyalı besiyerlerimizde E.histolytica'nın aksenik kültürünün yapılıp yapılmıyacağı araştırılmamıştır. Fakat bu noktanın araştırılmaya değer olduğu kanısındayız. Eğer böyle bir başarıya ulaşırsa Diamond'un tanımladığı aksenik kültür ortamından çok daha basit ve ucuz bir ortam bulunmuş olacaktır (7, 19).

Araştırmamızda elde ettiğimiz bulgulara dayanarak soyadan hazırladığımız besiyerinin E.histolytica'nın kültüründe son derece elverişli olduğunu söyleyebiliriz. İster agar eklenmesiyle katılaştırılmış olsun isterse sıvı halinde olsun besiyerlerine steril pirinç tanelerinin eklenmesi

bu parazitin üremesini stimüle etmiştir. Bu da pirinç veya pirinç ununun *E.histolytica*'nın kültüründeki önemine işaret eden yayınlara uymaktadır (9, 13, 19).

Kültürlerin incelenmesinde kist halinde ekilen *E.histolytica*'nın LES besiyerinde 48 saat sonra trofozoit haline geçtiği saptandı. İlk pasajlarda trofozoitlerin oldukça büyük ve karakteristik görünümde oldukları fakat ilerlemiş pasajlarda ise küçüldükleri ve tipik görünümünden uzaklaştıkları gözlemlendi. Özellikle pirinçli katı soya besiyerinde ilk pasajlarda amip trofozoitleri tam tipik özellik göstermemekle beraber ilerlemiş pasajlarda ortama adapte oldukça morfolojik yönden tipik görünümünü kazandılar.

Çalışmamızın amacı baştada belir<sup>tildi</sup>ği gibi, soya fasulye sinden hazırlanan besiyerlerinin protozoonların kültüründe kullanılıp kullanılmıyacağını araştırmaktır. Bu nedenle, *E.histolytica*'ya ek olarak geniş çapta olmasa da *Trichomonas muris*, *Giardia intestinalis*, *Chilomastix mesnili* ve işkembe kamçılı ve kirpiklilerinin soyalı besiyerlerindeki durumlarını inceledik.

*Trichomonas* türlerinin kültürü için kullanılan besiyerleri *Trichomonas*'ın çok fazla türü olması nedeniyle çeşitlilik gösterir. Hazırlanan bu besiyerlerinde çoğunlukla tripton, pepton, sığır eti özeti, L-sisteine hidrokloride, maltoz, sodyum klorür, damıtık su bulunur. Bu ortamlara inaktive serum ve antibiyotik de eklenmektedir (4, 13, 14, 19).

Çalışmamızda fare duodenum ve çekumundan aldığımız Trichomonas muris'lerin P. KSB, P. SSB ve LES besiyerlerinde üretilmesine çalışıldı. Trichomonas muris, özellikle P. KSB de oldukça iyi üretti. LES besiyerinde bu protozoon için olumlu bir sonuç alınamadı. Fakat P. KSB de yapılan kültürlerinde büyük ve oldukça hareketli şekilleri gözlemlendi.

Bu gözlemimize dayanarak, Trichomonas türlerinin kültürlerinde de de soyalı besiyerlerinin değişik modifikasyonlarının denenmesinin iyi olacağı düşüncesindeyiz.

Chilomastix mesnili'nin kültürü için bildirilen besiyerleri Locke veya Ringer solüsyonu, yumurta ve serum içermektedir (13, 19). 1960 da da Hibler ve Arkadaşları çekum materyeli ve serum içeren bir başka besiyeri bildirmişlerdir (13, 19).

Bizim çalışmamızda ise Chilomastix mesnili, soyalı besiyerlerinden pirinçli KSB de pirinçli SSB ye oranla daha iyi sonuç vermiştir. Kontrol olarak kullandığımız LES besiyerinde, gerek büyüklük gerekse aktif hareketlilik açısından iyi sonuç alınmasına karşılık, hazırladığımız besiyerlerinde 7-8 gün gibi kısa bir süre canlı kalmışlardır. Kültürlerde buldukları süre içinde de büyüklükleri LES besiyerlerindekiyle oranla daha ufak görülmüştür.

Giardia intestinalis'in kültürü de yine hem LES besiyerinde hem de soyalı besiyerlerinde denenmiştir. Kist halindeki ekimlerden sonra, kist-

ler LES besiyerinde görülmemelerine karşın soyalı besiyerlerinde pasajlarla yaklaşık 10 gün süresince normal görünümde kalmışlar fakat trofozoit haline geçmemişlerdir.

Giardia intestinalis'in kültürü ilk olarak 1960 larda Karapetyan tarafından yapılmıştır. Karapetyan infekte insanlardan alınan örneklerden monoksenik kültürler soyutlamayı başarmıştır. Daha sonraları insan, tavşan, çinçila, kedi ve kobaydan alınan Giardia intestinalis trofozoitlerinden monoksenik ve aksenik kültürler yapılabilmektedir (13, 16, 19).

Giardia intestinalis için kullanılan kültür ortamları karmaşık ve zengin besiyerleridir (13, 19). Araştırmalarımızda kullandığımız besiyerlerine Giardia'nın kist ekimi yapıldığı ve literatürde bildirilenler kadar zengin ortamlar olmadıkları için olumlu bir sonuç alınamamıştır. Fakat modifikasyonlar yapılarak soyalı besiyerleri Giardia intestinalis'in kültüründe denenebilir.

İşkembe protozoonlarının kültürlerinin yapılabilmesi için birçok araştırmalar yapılmaktadır (13, 19). Bu amaçla yapılan çalışmalar işkembe protozoonlarının in vitro kültürlerinin yapılacağı ortam koşullarının işkembenin doğal yapısına uygun olması gerektiğini ortaya çıkarmıştır.

Çalışmamızda işkembe protozoonlarını, hem LES besiyerine hem de pirinçli KSB ne ekmiştik. LES besiyerinde ilk kontrollerimizde protozoonlar görülmemesine karşın pirinçli KSB de çok kısa bir süre kırpikli ve kamçılı protozoon'ara ek olarak amip trofozoitleride görülmüştür.

Amp trofozoitleri bu besiyerlerinde çok tipik bir şekilde pasajlanabilmiştir. Kültürde gözlenen kistlerinin morfolojisinden (Şekil 4) bu amipin *Acanthamoeba* olduğu açıktır. Soyalı besiyerlerinin bu grup amiplerin de üretilmesinde denenmesi yönünde umut verici olduğu düşüncesindeyiz.



## S O N U Ç

Çalışmamızda kendi hazırladığımız PKSB ve PSSB'leri Entamoeba histolytica, Giardia intestinalis, Chilomastix mesnili, işkembe kamçılı ve kirpikli protozoonları ve Trichomonas muris'in kültürlerinin yapılması için denenmiştir. Bu protozoonlardan E.histolytica'nın kültüründe hazırladığımız besiyerlerinde başarılı sonuç elde edildi. Gerek kist, gerekse LES besiyerinde üretilen trofozoit hale getirdiğimiz E.histolytica suşları PKSB ve PSSB'de üremişlerdir. Pirinçsiz KSB'de de olumlu sonuçlar alınmıştır. Fakat PKSB'de olduğu şekilde tipik değildir. Ayrıca incelemelerimizde her tip için yaptığımız incelemelerin pozitif olarak değerlendirilmesinde bir tek preparat bakılmış ve bir tek trofozoit görülse dahi pozitif olarak değerlendirilmiştir. Pirincin üremeyi stimüle edip etmediğini tam olarak araştırmak için daha geniş çalışmalar yapılabilir.

Giardia intestinalis'in kistlerinden ekim yapılmış ve kültürlerde kistler kısa bir süre pasajlanabilmiştir. Bu süre içinde hazırladığımız besiyerleri Giardia intestinalis'in kültürü için uygun bulunmamıştır.

Chilomastix mesnili trofozoitleri kısa bir süre soyalı besiyerlerinde canlı kalabilmiştir. Bu yüzden Chilomastix için de hazırladığımız besiyerlerinin uygun olmadığını söyleyebiliriz. Fakat trofozoitler bir süre bu besiyerlerinde canlı kalabildiklerine göre ileri çalışmalar yapılabilir.

İşkembe kamçılı ve kirpiklileri ve diğer protozoonların kültüründe hazırladığımız besiyerlerinde LES besiyerine oranla daha iyi sonuçlar

elde edilmiştir. Özellikle *Acanthamoeba* grubu amipler için uygun görülmüştür.

*Trichomonas muris*, Soyalı besiyerlerinde LES besiyerlerine oranla daha iyi üremiş ve daha uzun süre canlı kalmıştır. Bu yüzden besiyerlerimizin *Trichomonas muris*'in kültürü için uygun olduğu görüşündeyiz.

Bütün bu sonuç ve bulgulardan, hazırladığımız besiyerlerinin özellikle *E.histolytica* ve *Trichomonas muris* için oldukça elverişli olduğunu ve bu protozoonların kültürlerinde besiyerlerimizin rutin kullanıma girebileceğini söyleyebiliriz.

### Ö Z E T

Bu çalışmada soya fasulyesinden hazırladığımız besiyerlerinde: *Entamoeba histolytica*, *Chilomastix mesnili*, *Giardia intestinalis*, *Tritrichomonas muris*, İşkembe kamçılı ve kirpikli protozoonlarının kültürü denenmiştir. Besiyerlerimiz pirinçli katı soya besiyeri ve pirinçli sıvı soya besiyeri olmak üzere 2 tiptir ve kontrol besiyeri olarak LES (Locke-egg-serum) besiyeri kullanılmıştır.

Bu protozoonlardan, *E.histolytica* ve *Tritrichomonas muris* besiyerlerimizde iyi üremiştir. *Chilomastix mesnili* ve İşkembe kamçılı ve kirpikli protozoonları kısa bir süre üretilmiş, *Giardia intestinalis* ise trofozoit haline geçmemiş kist halinde kalmıştır. Bu yüzden hazırladığımız besiyerlerinin *E.histolytica* ve *Tritrichomonas muris*'in kültüründe kullanılabilceği, *Chilomastix mesnili*, *Giardia intestinalis* ve İşkembe kamçılı ve kirpikli protozoonları için şimdiki halde elverişli olmadığı gözlenmiştir.



## USING MEDIA PREPARED FROM SOYBEAN FOR PROTOZOA CULTURE

### SUMMARY

In this study *Entamoeba histolytica*, *Chilomastix mesnili*, *Giardia Intestinalis*, *Tritrichomonas muris* and Rumen flagellates and ciliates cultures have been subjected to tests in soybean media prepared by us and their growths investigated.

Two types of media were prepared as hard soybean medium (with rice) and liquid soybean medium (with rice). The LES (Locke-egg-serum) was used as the control culture medium.

It has been observed that protozoa *Entamoeba histolytica* and *Tritrichomonas muris* displayed a good growth. *Chilomastix mesnili* and Rumen flagellates and ciliates multiplied for a short period of time but *Giardia Intestinalis* did not develop into trophozoite stage and remained in cystic form. It has, therefore, been considered that the media prepared by us may be used for the *Entamoeba histolytica* and *Tritrichomonas muris* cultures but are not suitable for *Chilomastix mesnili* and Rumen flagellates and ciliates for the time being.

### KAYNAKLAR

1. Aran, N. : Vinas'ın besiyeri olarak kullanılma olanakları. Kükem Derg., 3: 24, 1980.
2. Brooke, M. M. : Laboratory diagnosis of amoebiasis. Pro. 6th Int. Cong. Trop. Med. and Malaria, 3: 369-384, 1958.
3. Brooke, M. M. : PVA-Fixative Technique in the laboratory of amoebiasis. <sup>confirmation</sup> Triangle 4: 326-335, 1960.
4. Çetin, E. T. : Pratik Mikrobiyoloji. 2. Baskı Menteş Matbaası, İst, 1968.
5. Çetin, E.T., Büget, N., Ötük, G. : Soya fasulyesi ve küspesinden hazırlanan besiyerleri. Kükem Derg., 2: 56-60, 1971.
6. Çetin, E. T., Gürler, B., Bodur, S. : B<sub>12</sub> vitaminin fermantasyonla elde edilmesi için uygun besiyerinin araştırılması. Kükem Derg., 1: 25-31, 1978.
7. Diamond, L. S. : A new liquid medium for xenic cultivation of Entamoeba histolytica and other lumen dwelling protozoa. J. Parazitol., 68: 958-959, 1982.
8. Faust, E. C., Beaver, P. C., Jung, R. C.: Animal Agents and Vectors of Human Disease. 2nd. ed., Lea and Febiger, Philadelphia. 1962.
9. Faust, E. C., Read, R. T. : Parasitologic surveys in Cali Departamento Dell Valle, Colombia. V. Capacity of Entamoeba histolytica of human origin to utilize different types of starches in its metabolism. Ame. J. Trop. Med. Hyg., 8: 293-303, 1959.
10. Faust, E. C., Russell, P. F. : Craig and Faust's Clinical Parasitology. 7th. ed. Lea and Febiger, Philadelphia. 1964.
11. Gökçen, J., Tümer, M. : Yağlı tohum küspelerinden protein konsantre ve izolatlarının elde edilmesi olanakları. TÜBİTAK-MAE Beslenme ve Gıda Teknolojisi Bölümü Yayını - Yayın No:40, MAE Basımevi Gebze, 1979.

12. Jarumilinta, R., Maegraith, B. G. : Hyaluronidase activity in stock cultures of *Entamoeba histolytica*. *Ann. Trop. Med. Parasitology.*, 54: 118-128, 1960.
13. Kreir, J. P. (ed) : *Parasitic Protozoa*. 2 nci baskı Academic Press, New York, 1978.
14. Merdivenci, A. : *Medikal Parazitoloji pratiği*. İst. Üniv. Tıp Fak. Yayını No: 61. İstanbul 1979.
15. Merdivenci, A. : *Medikal Protozooloji*. İst Üniv. Tıp Fak. Yayını No: 80, 2nci baskı, İstanbul 1981.
16. Palavan, H., Tunçman, Z. M. : Soya fasulyesi ve ondan yapılan vasatlar. *Hıfzısıhha Tec. Biol. Mec.*, 4: 9-13, 1944.
17. Saygı, G. : *Leishmania tropica* için kolay ve ucuz bir besiyeri (Araştırma notu). *C. Ü. Tıp Fak. Derg.*, 5: 109- 110, 1983.
18. Sürmeli, G., Günel S. : Soya küspesi besiyerinin besinlerini mikrobiyolojik kontrolünde kullanılabilirliğinin araştırılması. *Kökem Derg.* 6 : 144, 1983.
19. Taylor, A. E. R., Baker, R. J. (eds) : *Methods of Cultivating Parasites In Vitro*. Academic Press, London. 1978.
20. Topal, Ş. : *Çeşitli Tarımsal ve Gıda Sanayii artıklarının mikrobiyolojide besiyeri olarak kullanılabilme olanaklarının araştırılması*. TÜBİTAK-MAE Beslenme ve Gıda Teknolojisi Bölümü Yayını No: 58 MAE Basımevi Gebze, 1982.
21. Unat, E. K. : *Balıktan hazırlanan besiyerleri üzerine*. *Türk Tıp Alımı Tıp Derg.*, 7: 147-150, 1971.
22. Unat, E. K. : *Tıp Parazitolojisi*. İst. Üniv. Cerr. Tıp Fak. Yayını No: 62. 2nci baskı. İstanbul, 1979.