

# Rutin Mikrobiyoloji Laboratuvarlarında Bulunan Temel Besiyerlerinde *Trichomonas vaginalis*'in Üretilmesi

## Growth of *Trichomonas vaginalis* in Basic Media Available in Routine Microbiology Laboratories

Yener Özel<sup>1</sup>, Umut Yılmaz<sup>1</sup>, Gülhan Ünlü<sup>1</sup>, Ahmet Özbilgin<sup>2</sup>, Mehmet Ünlü<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Balıkesir Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Balıkesir, Türkiye

<sup>2</sup>Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı, Manisa, Türkiye

Cite this article as: Özel Y, Yılmaz U, Ünlü G, Özbilgin A, Ünlü M. Growth of *Trichomonas vaginalis* in Basic Media Available in Routine Microbiology Laboratories. Türkiye Parazitoloj Derg 2022;46(1):7-13.

### ÖZ

**Amaç:** *Trichomonas vaginalis*, tek hücreli ve kamçılı bir parazit olup, cinsel yolla bulaşan etkenler arasında virüslerden sonra en sık görülen ikinci patojendir. *T. vaginalis*'in laboratuvar tanısı, mikroskopik inceleme, kültür ve moleküler yöntemler ile yapılmaktadır. Ancak rutin mikrobiyoloji laboratuvarlarının çoğunda kültür ve moleküler yöntemlerin maliyetli olması nedeniyle sadece mikroskopi ile tanı konulmaya çalışılmaktadır. Bu çalışmada, mikrobiyoloji laboratuvarında yaygın olarak bulunan besiyerlerinde *T. vaginalis*'in üretilmesi amaçlanmıştır.

**Yöntemler:** Bu çalışmada, tiyoglukolat besiyeri (THIO), brain heart infusion besiyeri (BHI), tryptic soya broth besiyeri (TSB) ve Brucella broth besiyeri (BRB) olmak üzere dört besiyeri modifiye edilerek denenmiştir. Referans besiyeri olarak trypticase-yeast-extract-maltose (TYM) besiyeri kullanılmıştır. Denenen her bir besiyeri, üç farklı serum katkısı ile zenginleştirilmiştir. Her bir besiyerine  $10^4$  parazit/mL *T. vaginalis* trofozoiti inoküle edilmiş ve  $37^\circ\text{C}$ 'de 10 gün inkübe edilmiştir. Trofozoit sayısı hemasitometre, canlılık oranları ise tripan mavisi kullanılarak belirlenmiştir.

**Bulgular:** Besiyerlerindeki *T. vaginalis* üremesi, referans besiyeri olan TYM ile kıyaslanmıştır. *T. vaginalis*, at serumu ve fetal sığır serumu ile zenginleştirilmiş THIO, BHI ve TSB besiyerlerinde çok iyi ürerken, BRB besiyerinde ürememiştir. Buna ek olarak, insan serumu ile zenginleştirilmiş besiyerlerinin hiçbirinde *T. vaginalis* üremesi görülmemiştir. Parazitin en yüksek seviyeye ulaştığı zaman ve sayı, THIO-ATS ve THIO-FCS besiyerleri için sırasıyla, beşinci ve dördüncü günde  $100 \times 10^4$  parazit/mL; BHI-ATS besiyeri için üçüncü günde  $100 \times 10^4$  parazit/mL; BHI-FCS besiyeri için beşinci günde  $98 \times 10^4$  parazit/mL; TSB-ATS besiyeri için dördüncü günde  $100 \times 10^4$  parazit/mL ve TSB-FCS besiyeri için ise yedinci günde  $82 \times 10^4$  parazit/mL olarak belirlenmiştir. Referans besiyeri olan TYM ile kıyaslandığında *T. vaginalis* trofozoitlerinin yaşam süresinin THIO, BHI ve TSB besiyerlerinde çok daha uzun olduğu saptanmıştır.

**Sonuç:** THIO-ATS, THIO-FCS, TSB-ATS, TSB-FCS, BHI-ATS ve BHI-FCS besiyerlerinin, *T. vaginalis*'in üretilmesi açısından TYM ile kıyaslanabilir olduğu saptanmıştır. Rutin mikrobiyoloji laboratuvarında yaygın olarak bulunan THIO, TSB ve BHI besiyerlerinin içeriği *T. vaginalis*'in kültürüne imkan sağlayabilir.

**Anahtar Kelimeler:** *T. vaginalis*, brain heart infusion, thioglukolat, trypticase soya broth, trypticase-yeast-extract-maltose

### ABSTRACT

**Objective:** *Trichomonas vaginalis* is a protozoan parasite with unicellular, flagellate, and anaerobic metabolism. It is the second most prevalent pathogen among sexually transmitted agents after viruses. Microscopic examination, culture, and molecular methods are used in the laboratory diagnosis of *T. vaginalis*. However, in most routine microbiology laboratories, microscopy is preferred instead of culture and molecular methods for *T. vaginalis* diagnosis because microscopy is cheaper than other methods. This study aimed to produce *T. vaginalis* in media that can be detected frequently in microbiology laboratories.

**Methods:** In this study, four media, namely, thioglucocholate medium (THIO), brain heart infusion medium (BHI), tryptic soy broth medium (TSB), and Brucella broth medium (BRB) were modified and tested. Trypticase-yeast extract-maltose (TYM) medium was used as a reference medium. Each medium tested was enriched with three different serum additives. *T. vaginalis* trophozoite at a density of  $10^4$  parasites/mL was inoculated into each medium and incubated at  $37^\circ\text{C}$  for 10 days. We determined the number of trophozoites using a hemocytometer, and the viability rates were determined using trypan blue.

**Results:** *Trichomonas vaginalis* grew extremely well on THIO, BHI, and TSB media but not on BRB media. The time and number of parasites peaked were determined as  $100 \times 10^4$  parasites/mL on THIO-ATS and THIO-FCS media on days five and four, respectively,



Geliş Tarihi/Received: 13.10.2021 Kabul Tarihi/Accepted: 04.11.2021

Yazar Adresi/Address for Correspondence: Yener Özel, Balıkesir Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Balıkesir, Türkiye  
Tel/Phone: +90 544 325 73 52 E-Posta/E-mail: yener\_ozel@hotmail.com ORCID ID: orcid.org/0000-0001-6618-8251

100×10<sup>4</sup> parasites/mL on BHI-ATS on day three, 98×10<sup>4</sup> parasite/mL on BHI-FCS media on day five, 100×10<sup>4</sup> parasites/mL on TSB-ATS on day four, and 82×10<sup>4</sup> parasite/mL on TSB-FCS media on day seven. Compared with the reference medium, TYM, *T. vaginalis* trophozoites survived significantly longer in THIO, BHI, and TSB media.

**Conclusion:** The rich content of THIO, TSB, and BHI media, which are widely available in routine microbiology laboratories, may allow *T. vaginalis* growth.

**Keywords:** *T. vaginalis*, brain heart infusion, thioglycolate, trypticase soy broth, trypticase-yeast extract-maltose

## GİRİŞ

Trichomoniasis, kamçılı bir protozoon olan *Trichomonas vaginalis*'in (*T. vaginalis*) neden olduğu, kadınlarda kötü kokulu akıntı, kaşıntı, ağrı ve üretrit ile karakterize, cinsel yolla bulaşan bir enfeksiyondur (1). Dünya Sağlık Örgütü'nün 2016 yılında yayımladığı raporda, *T. vaginalis* kaynaklı enfeksiyonların 156 milyon olduğu bildirilmiştir (2). Ülkemizde ise yapılan çalışmalarda *T. vaginalis* pozitifliği %3-9,4 arasında değişmektedir (3).

*T. vaginalis*, kadınlarda erken doğum ve pelvik enflamatuvar hastalıkları ile her iki cinste kısırlık gibi üreme sistemi sorunlarına neden olmaktadır (4,5). *T. vaginalis* enfeksiyonları kendi kendini sınırlamamakta ve genital epitelde nekroz ve kanamayla birlikte ülseratif olmayan enflamasyona neden olmakta ve bu durum, insan immün yetmezlik virüsü (HIV) geçişinin artmasıyla ilişkilendirilmektedir (6). Enfeksiyon, genellikle kötü kokulu sarı-yeşil akıntı, vajinal kaşıntı ve karın ağrısı gibi klinik belirtiler ile ilişkili olmakla birlikte bu belirtiler spesifik değildir.

*T. vaginalis* için en yaygın kullanılan laboratuvar tanı yöntemi direkt mikroskopik incelemedir (7). Armut biçimli trofozoitlerin dönme veya yuvarlanma biçimindeki hareketlerinin görülmesi ile kesin tanı konabilmektedir. Ancak, mikroskopi yönteminin duyarlılığının düşük olması (%38-82) nedeniyle negatif sonuçlar enfeksiyonu dışlamamaktadır (8). Direkt mikroskopik incelemeye ek olarak, Giemsa boyama (9), Modifiye Field boyama (10) ve sıvı bazlı Pap testleri (11) vajinal yaymalarda *T. vaginalis* tanısı için kullanılmaktadır.

*T. vaginalis* tanısında düşük maliyetli ve kısa sürede sonuç verebilen monoklonal antikörlerin kullanıldığı lateks aglutinasyon, immünofloresan, enzim bağlı immünosorbent (ELISA) ve immüno-kromatografi gibi serolojik yöntemler geliştirilmektedir (12,13). Nükleik asit amplifikasyon teknikleri, *T. vaginalis*'in saptanmasında kültür ve diğer tekniklerden daha duyarlıdır (14,15). Özellikle son dönemlerde yeni nesil dizileme tekniklerinin geliştirilmesi ile, *T. vaginalis* suşlarının genotip özellikleri de belirlenmektedir (16). Mevcut diğer tekniklerin aksine, moleküler teknikler ile düşük parazit yükü olan örneklerde de tanı konabilmektedir (17). Moleküler yöntemlerin kullanılmadığı rutin laboratuvarlarda *T. vaginalis* varlığını saptamak için kültür yöntemi en doğru tercih olacaktır. Kültür yöntemi ile olguların %95'ine tanı konabilmekte ve kültür yöntemi "altın standart" olarak kabul edilmektedir (18). Bu çalışmada, rutin mikrobiyoloji laboratuvarında yaygın olarak bulunan besiyerlerinde *T. vaginalis*'in üretilmesi ve maliyet açısından en uygun besiyerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

## YÖNTEMLER

### Parazit Suşu

Bu çalışmada kullanılan *T. vaginalis* suşu, Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazit Bankası'ndan temin edilmiştir.

### Besiyerlerinin Tasarlanması

Rutin mikrobiyoloji laboratuvarlarında yaygın olarak bulunan tiyoglykolat besiyeri (THIO), brain heart infusion besiyeri (BHI), tryptic soya broth besiyeri (TSB) ve Brucella broth besiyeri (BRB) olmak üzere dört farklı sıvı besiyeri tercih edilmiştir. Her bir besiyerinin at serumu (ATS), fetal sığır serumu (FCS) ve insan serumu (İNS) ile zenginleştirilmiş üç formu hazırlanmış ve referans besiyeri olarak, at serumu ile zenginleştirilmiş TYM besiyeri kullanılmıştır.

### Besiyerlerinin Hazırlanması

Denenen besiyerlerinden THIO, BHI, TSB ve BRB sırasıyla; 2,9, 3,7, 3,0 ve 2,8 g tartılarak 100 mL distile su içinde çözülmüştür. Referans besiyeri olan TYM ise; 0,5 mg L-cystein HCL, 0,1 g askorbik asit, 0,4 g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0,4 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 10 g trypticase, 2,5 g maltoz, 10 g yeast extract ve 0,25 g bacto-agar, 300 mL distile su içinde çözülerek hazırlanmış ve tüm besiyerleri 121 °C'de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir. Besiyerleri 45-50 °C'ye soğutulmuş steril cam tüplere 4'er mL dağıtılarak kullanılmaya kadar +4 °C'de saklanmıştır. Besiyerlerine, kullanım öncesi antibiyotik karışımı (1 mg/mL streptomisin, 1,000 U/mL penisilin, 10 mg/mL gentamisin), at serumu (Gibco marka, steril ve inaktif, 26050088), fetal sığır serumu (Gibco marka, steril ve inaktif, A4766801) ve insan serumu eklenmiştir. İnsan serumu, rutin mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen, hepatit ve HIV açısından negatif olan, hasta serumlarından havuzlanarak toplanmış ve 56 °C'de 30 dakika bekletilerek inaktif edilmiş ve besiyerine eklenmeden önce 0,22 µm'lik bakteri filtresinden geçirilmiştir.

### Parazit İnokülasyonu ve Üremelerin Değerlendirilmesi

Referans besiyerinde üretilmiş olan *T. vaginalis* trofozoitleri 10<sup>4</sup> parazit/mL olacak şekilde hazırlanmış ve tüm besiyerlerine inoküle edilerek 37 °C'de 10 gün inkübe edilmiştir. Trofozoit sayısı hemasitometre, canlılık oranları ise tripan mavisi kullanılarak belirlenmiştir.

### İstatistiksel Analiz

Grup sayısı üç ve üzerinde olduğundan grup ortalamasının karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis H testi kullanılmıştır. Ayrıca veriler arasındaki ilişki Spearman's korelasyonu ile değerlendirilmiştir. Anlamlılık değeri %5 kabul edilmiş ve veriler IBM SPSS 25.0 programı ile analiz edilmiştir.

## BULGULAR

Denenen besiyerlerindeki *T. vaginalis* üremeleri, referans besiyeri olan TYM besiyeri ile kıyaslanmıştır. TYM-ATS besiyeri ile kıyaslandığında *T. vaginalis* üremelerinin, THIO-ATS'de çok daha iyi olduğu (p<0,05), THIO-FCS besiyerinin ise TYM-ATS besiyeri ile uyumlu olduğu görülmüştür (p>0,05). THIO-ATS ve THIO-FCS besiyerleri birbiri ile uyumlu bulunurken aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir

fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). THIO-İNS besiyerinde üreme görülmemiş ve 3. günde canlılık sona ermiştir. Parazit sayıları, THIO-ATS ve THIO-FCS besiyerlerinde sırasıyla, 5. ve 4. günde  $100 \times 10^4$  parazit/mL'ye ulaşmış ve bu günlerde canlılık oranları sırasıyla, %96,2 ve %88,9 olarak saptanmıştır. TYM-ATS besiyerindeki parazit sayısı 3. günde en yüksek seviyeye ulaşırken canlılık oranı %52,2 olarak tespit edilmiştir. THIO-ATS ve THIO-FCS besiyerlerinde canlılık sırasıyla 8. ve 7. güne kadar devam ederken; TYM-ATS besiyerinde 6. günde canlı parazit görülmemiştir (Tablo 1, Grafik 1a, b).

BHI besiyerlerinde, BHI-ATS ve BHI-FCS *T. vaginalis* üremesi açısından istatistiksel olarak birbiri ile uyumlu iken ( $p>0,05$ ), BHI-İNS ile uyumlu bulunmamıştır ( $p<0,05$ ). BHI-ATS, BHI-FCS ve BHI-İNS besiyerleri, TYM-ATS besiyeri ile kıyaslandığında, en iyi parazit üremesi BHI-ATS ve BHI-FCS besiyerlerinde görülmüş, BHI-İNS besiyerinde ise üreme görülmemiştir. BHI-ATS ve BHI-FCS besiyeri ile TYM-ATS besiyeri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yok iken ( $p>0,05$ ), BHI-İNS arasında anlamlı bir fark bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Parazit sayıları, BHI-ATS besiyerinde 3. günde  $100 \times 10^4$  parazit/mL'ye, BHI-FCS besiyerinde ise 5. günde  $98 \times 10^4$  parazit/mL'ye ulaşmış ve bu günlerde canlılık oranları sırasıyla %96,2 ve %70 olarak saptanmıştır. BHI-ATS ve BHI-FCS besiyerlerindeki parazit canlılığı sırasıyla 7. ve 10. güne kadar

devam ederken, TYM-ATS besiyerinde ise 6. günde canlı parazit görülmemiştir (Tablo 2, Grafik 2a, b).

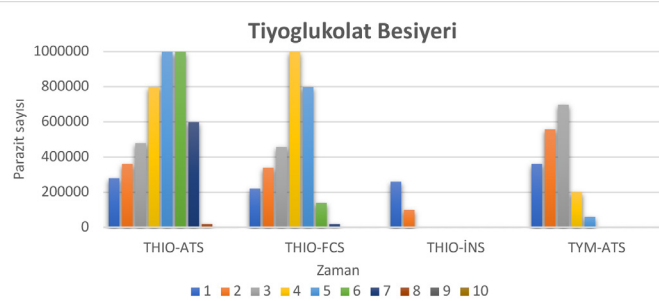
TSB besiyerleri içinde, en iyi parazit üremesi yine at serumu ve fetal sığır serumu ile zenginleştirilmiş besiyerlerinde görülürken, insan serumu içeren besiyerinde üreme görülmemiş ve 3. günde canlılık sona ermiştir. TSB-ATS ve TSB-FCS besiyerleri parazit üremesi açısından TYM-ATS besiyerinden daha iyi olup her iki besiyeri ile TYM-ATS besiyeri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark tespit edilmiştir ( $p<0,05$ ). TSB-ATS ve TSB-FCS besiyerleri birbiri ile kıyaslandığında aralarında anlamlı bir fark gözlenmezken ( $p>0,05$ ), bu besiyerleri ile TSB-İNS arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Parazit sayısı, TSB-ATS besiyerinde 4. günde  $100 \times 10^4$  parazit/mL'ye, TSB-FCS besiyerinde ise 7. günde  $82 \times 10^4$  parazit/mL'ye ulaşmış ve bu günlerde canlılık oranı sırasıyla %66 ve %67,2 olarak saptanmıştır. TSB-ATS ve TSB-FCS besiyerlerindeki parazit canlılığı sırasıyla 9. ve 10. güne kadar devam ederken TYM-ATS besiyerinde ise 6. günde canlı parazit görülmemiştir (Tablo 3, Grafik 3a, b).

BRB besiyerlerinde *T. vaginalis* üremesi görülmemiştir. İnkübasyonun 2. gününde parazit sayısı ve canlılığının tüm BRB besiyerlerinde dramatik olarak azaldığı ve 3. günde canlılığın sonlandığı görülmüştür (Tablo 4, Grafik 4a, b).

**Tablo 1.** THIO besiyerindeki parazit sayısı (parazit/mL) ve canlılık oranları (%)

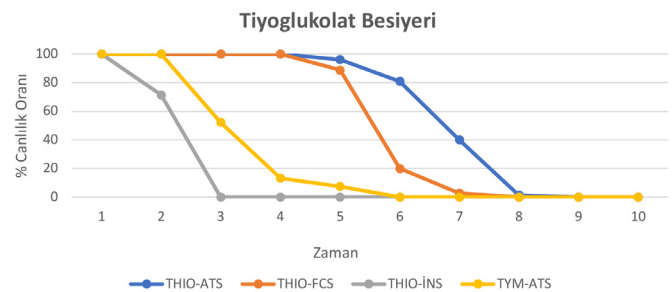
Gün	THIO-ATS		THIO-FCS		THIO-İNS		TYM-ATS	
	Parazit sayısı	% Canlılık	Parazit sayısı	% Canlılık	Parazit sayısı	% Canlılık	Parazit sayısı	% Canlılık
1	28,10 <sup>4</sup>	100	22,10 <sup>4</sup>	100	26,10 <sup>4</sup>	100	36,10 <sup>4</sup>	100
2	36,10 <sup>4</sup>	100	34,10 <sup>4</sup>	100	10,10 <sup>4</sup>	71,4	56,10 <sup>4</sup>	100
3	48,10 <sup>4</sup>	100	46,10 <sup>4</sup>	100	0	0	70,10 <sup>4</sup>	52,2
4	80,10 <sup>4</sup>	100	100,10 <sup>4</sup>	100	0	0	20,10 <sup>4</sup>	13,2
5	100,10 <sup>4</sup>	96,2	80,10 <sup>4</sup>	88,9	0	0	6,10 <sup>4</sup>	7,5
6	100,10 <sup>4</sup>	81	14,10 <sup>4</sup>	20	0	0	0	0
7	60,10 <sup>4</sup>	40	2,10 <sup>4</sup>	2,7	0	0	0	0
8	2,10 <sup>4</sup>	1,4	0	0	0	0	0	0
9	0	0	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0	0	0

THIO: Tiyoglukolat besiyeri, FCS: Fetal sığır serumu, ATS: At serumu, İNS: İnsan serumu



**Grafik 1a.** THIO besiyerlerindeki parazit sayısının günlere göre değişimi

THIO: Tiyoglukolat besiyeri, FCS: Fetal sığır serumu, ATS: At serumu, İNS: İnsan serumu



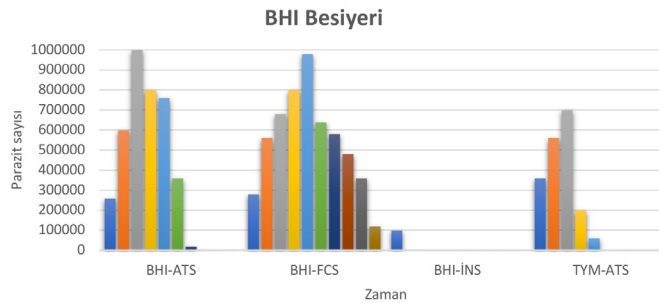
**Grafik 1b.** THIO besiyerlerindeki parazit canlılığının günlere göre değişimi

THIO: Tiyoglukolat besiyeri, FCS: Fetal sığır serumu, ATS: At serumu, İNS: İnsan serumu

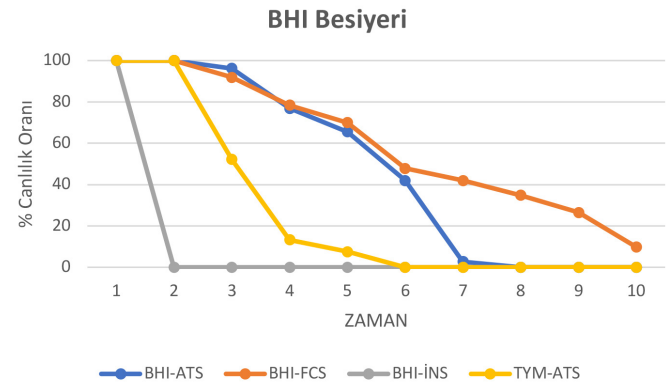
**Tablo 2.** BHI besiyerindeki parazit sayısı (parazit/mL) ve canlılık oranları (%)

Gün	BHI-ATS		BHI-FCS		BHI-İNS		TYM-ATS	
	Parazit sayısı	% Canlılık	Parazit sayısı	% Canlılık	Parazit sayısı	% Canlılık	Parazit sayısı	% Canlılık
1	26,10 <sup>4</sup>	100	28,10 <sup>4</sup>	100	10,10 <sup>4</sup>	100	36,10 <sup>4</sup>	100
2	60,10 <sup>4</sup>	100	56,10 <sup>4</sup>	100	0	0	56,10 <sup>4</sup>	100
3	100,10 <sup>4</sup>	96,2	68,10 <sup>4</sup>	91,9	0	0	70,10 <sup>4</sup>	52,2
4	80,10 <sup>4</sup>	76,9	80,10 <sup>4</sup>	78,4	0	0	20,10 <sup>4</sup>	13,2
5	76,10 <sup>4</sup>	65,5	98,10 <sup>4</sup>	70	0	0	6,10 <sup>4</sup>	7,5
6	36,10 <sup>4</sup>	41,9	64,10 <sup>4</sup>	47,8	0	0	0	0
7	2,10 <sup>4</sup>	2,7	58,10 <sup>4</sup>	42	0	0	0	0
8	0	0	48,10 <sup>4</sup>	34,8	0	0	0	0
9	0	0	36,10 <sup>4</sup>	26,5	0	0	0	0
10	0	0	12,10 <sup>4</sup>	9,8	0	0	0	0

BHI: Brain heart infusion besiyeri, FCS: Fetal sığır serumu, ATS: At serumu, İNS: İnsan serumu

**Grafik 2a.** BHI besiyerlerindeki parazit sayısının günlere göre değişimi

BHI: Brain heart infusion besiyeri, FCS: Fetal sığır serumu, ATS: At serumu, İNS: İnsan serumu

**Grafik 2b.** BHI besiyerlerindeki parazit canlılığının günlere göre değişimi

BHI: Brain heart infusion besiyeri, FCS: Fetal sığır serumu, ATS: At serumu, İNS: İnsan serumu

## TARTIŞMA

Trichomoniasisin belirti ve semptomları, diğer cinsel yolla bulaşan enfeksiyonların ve bakteriyel vajinozozun neden olduğu belirtilere benzemektedir. Semptomatik olgularda, klinik belirtiler kötü kokulu akıntı, vaginal kaşıntı veya dizüri ile karakterize üretrit şeklinde kendini göstermektedir (19). Yapılan çalışmalar, enfekte kadınların yaklaşık %25'inin, erkeklerin ise %40-75'inin asemptomatik olduğunu göstermektedir (20,21). Trichomoniasisin klinik belirtileri spesifik değildir ve enfeksiyon sıklıkla asemptomatik seyretmektedir. Bu nedenle *T. vaginalis* enfeksiyonunun doğru tanısı için yüksek duyarlılığa sahip, basit ve kolay ulaşılabilir laboratuvar testlerinin kullanılması gerekmektedir.

Rutin mikrobiyoloji laboratuvarlarında *T. vaginalis* tanısında en sık kullanılan yöntem, basit ve ucuz bir yöntem olan direkt mikroskopi; kolay uygulanabilir, düşük maliyetli ve kısa sürede sonuç verilebilmesine karşın, duyarlılığının düşük olduğu bildirilmektedir (18). Buna ek olarak, tecrübeli bir teknik eleman gerektirmesi ve hareketliliği azalmış düşük parazit yükü içeren örneklerde, trofozoitlerin lökositler ile karıştırılabilmesi yöntemin dezavantajlarını oluşturmaktadır.

Direkt mikroskopinin bu dezavantajlarının tersine, *T. vaginalis* varlığını saptamak için "altın standart" olarak kabul edilen kültür yöntemi ile olguların %95'ine tanı konabilmektedir (7). Ticari olarak kullanıma sunulan sıvı besiyerlerinin dezavantajları arasında pahalı olmaları ve rutin mikrobiyoloji laboratuvarlarında kolayca bulunmamaları sıralanabilir (22). Çalışmamızda denenen besiyerlerinin karşılaştırmalı maliyet analizi yapıldığında, THIO, BHI ve TSB besiyerlerinin, TYM besiyerinden 3,5 kat daha düşük maliyetli olduğu tespit edilmiştir.

Bu çalışmada, sıklıkla rutin mikrobiyoloji laboratuvarlarında bulunabilen ve çeşitli bakterilerin üretilmesinde kullanılan zenginleştirilmiş besiyerlerinin modifiye edilerek *T. vaginalis* izolasyonunda kullanılması hedeflenmiştir. Poch ve ark. (23) THIO besiyerini modifiye ederek 176 hasta örneğini, Diamond besiyeri ve THIO besiyeri ile çalışmış ve THIO besiyerinin, *T. vaginalis*'in saptanmasında Diamond besiyeri kadar güvenilir olduğunu bildirmiştir. Ayrıca araştırmacılar, *T. vaginalis* kültürlerinde, vaginal kontaminasyonun en sık etkenlerinden olan *Candida* spp. türlerinin aynı amphoteresin B miktarı içermesine rağmen THIO besiyerinde daha az ürediğini rapor etmiştir (23). Adiloğlu ve ark. (24) tarafından yapılan farklı bir çalışmada ise, modifiye Diamond

ve modifiye tiyoglikolat besiyerleri 269 hasta üzerinde çalışılmış ve toplam 34 olguda pozitiflik saptanmıştır. Duyarlılık, modifiye Diamond besiyerinde %94,1, modifiye tiyoglikolat besiyerinde ise %70,6 olarak bildirilmiştir (24). Benzer bir çalışmada, Kilimcioğlu ve ark. (25) klinik semptomu olan 300 hasta örneğinde *T. vaginalis* pozitifliğini Diamond, tiyoglukolat, TYM ve CPLM besiyerleri ile araştırmıştır. Yazarlar, Diamond ve TYM besiyerinde 24 saat sonra trofozoit sayısının  $1,2 \times 10^4$  parazit/mL yoğunluğa ulaştığını buna karşılık, tiyoglukolat ve CPLM besiyerlerinde trofozoit yoğunluğunun daha düşük olduğunu ancak Diamond ve TYM besiyerine kıyasla tiyoglukolat ve CPLM besiyerlerinde trofozoit canlılığının daha uzun sürdüğünü rapor etmiştir (25). Bizim çalışmamızda THIO besiyerindeki canlılık süresi ve parazit sayısının TYM besiyerine kıyasla daha yüksek olduğu saptanmıştır.

BHI besiyeri, zor üreyen patojenik mikroorganizmaların izolasyonunda kullanılan zenginleştirilmiş bir besiyeri olup özellikle, *Streptococcus pneumonia*, *Listeria monocytogenes* ve *Clostridium difficile*'in üretilmesinde kullanılmaktadır (26,27). TSB ise yaygın olarak aerobik, fakültatif ve anaerobik bakteri ve mantarları da kapsayan çeşitli mikroorganizmaların gelişmesini destekleyici olarak kullanılan zengin bir besiyeridir. Aynı

zamanda çeşitli bakterilerin antibiyotik duyarlılık testleri için de CLSI tarafından uygun görülmüştür (28). Literatürde BHI ve TSB besiyerlerinin *T. vaginalis* izolasyonu açısından araştırıldığı bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bu çalışma, *T. vaginalis*'in BHI ve TSB besiyerlerinde referans besiyerinden daha iyi üretilebildiğini gösteren ilk çalışmadır. *T. vaginalis* trofozoitlerinin, denenen BHI ve TSB besiyerlerinde çok daha uzun süre canlı kaldığı saptanmıştır. Ayrıca fetal sığır serumu ile zenginleştirilmiş BHI ve TSB besiyerlerinin at serumu ile zenginleştirilmiş olanlar ile kıyaslanabilir performansa sahip olması, bu besiyerlerinin teminini kolaylaştırmaktadır. Ancak insan serumu ile zenginleştirilmiş besiyerlerinin hiçbirinde üreme saptanamamıştır.

Bu çalışmada ATS ve FCS ile zenginleştirilmiş THIO, BHI ve TSB besiyerlerinin altın standart kültür ortamı olarak kabul edilen TYM besiyerinden daha iyi sonuç verdiği gösterilmiştir. Buna karşılık BRB besiyeri ve insan serumu ile zenginleştirilmiş olan besiyerlerinin hiçbirinde *T. vaginalis* ürememiştir.

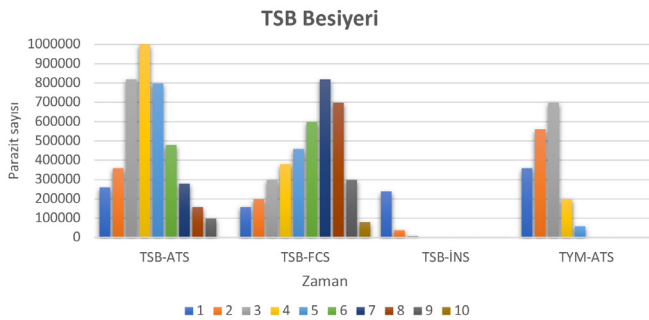
### Çalışmanın Kısıtlılığı

Bu çalışmada tasarlanan besiyerlerinin performansı, logaritmik faza girmiş ve çoğalma potansiyeli yüksek olan bir *T. vaginalis*

**Tablo 3.** TSB besiyerindeki parazit sayısı (parazit/mL) ve canlılık oranları (%)

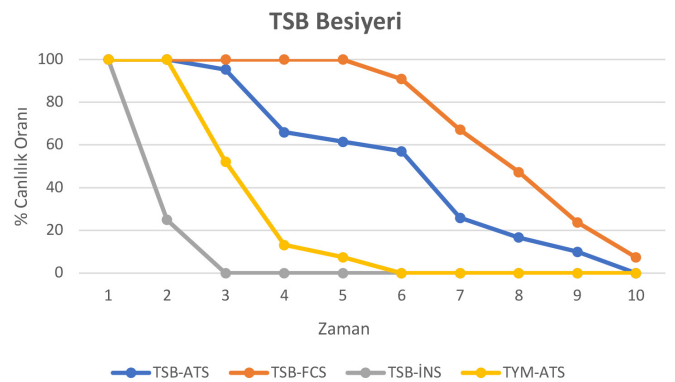
Gün	TSB-ATS		TSB-FCS		TSB-İNS		TYM-ATS	
	Parazit sayısı	% Canlılık	Parazit sayısı	% Canlılık	Parazit sayısı	% Canlılık	Parazit sayısı	% Canlılık
1	26,10 <sup>4</sup>	100	16,10 <sup>4</sup>	100	24,10 <sup>4</sup>	100	36,10 <sup>4</sup>	100
2	36,10 <sup>4</sup>	100	20,10 <sup>4</sup>	100	4,10 <sup>4</sup>	25	56,10 <sup>4</sup>	100
3	82,10 <sup>4</sup>	95,3	30,10 <sup>4</sup>	100	1,10 <sup>4</sup>	0	70,10 <sup>4</sup>	52,2
4	100,10 <sup>4</sup>	66	38,10 <sup>4</sup>	100	0	0	20,10 <sup>4</sup>	13,2
5	80,10 <sup>4</sup>	61,5	46,10 <sup>4</sup>	100	0	0	6,10 <sup>4</sup>	7,5
6	48,10 <sup>4</sup>	57,1	60,10 <sup>4</sup>	90,9	0	0	0	0
7	28,10 <sup>4</sup>	25,9	82,10 <sup>4</sup>	67,2	0	0	0	0
8	16,10 <sup>4</sup>	16,7	70,10 <sup>4</sup>	47,3	0	0	0	0
9	10,10 <sup>4</sup>	10	30,10 <sup>4</sup>	23,8	0	0	0	0
10	0	0	8,10 <sup>4</sup>	7,4	0	0	0	0

TSB: Tryptic soya broth besiyeri, FCS: Fetal sığır serumu, ATS: At serumu, İNS: İnsan serumu



**Grafik 3a.** TSB besiyerlerindeki parazit sayısının günlere göre değişimi

TSB: Tryptic soya broth besiyeri, FCS: Fetal sığır serumu, ATS: At serumu, İNS: İnsan serumu



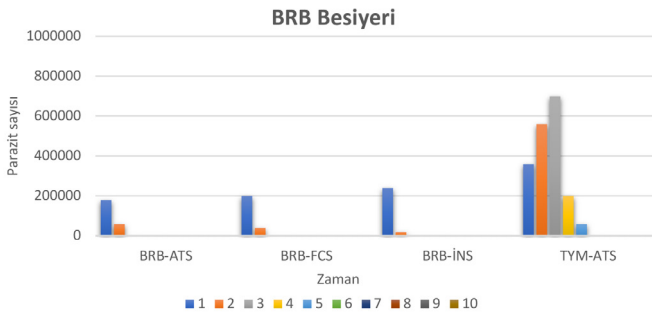
**Grafik 3b.** TSB besiyerlerindeki parazit canlılığının günlere göre değişimi

TSB: Tryptic soya broth besiyeri, FCS: Fetal sığır serumu, ATS: At serumu, İNS: İnsan serumu

**Tablo 4.** BRB besiyerindeki parazit sayısı (parazit/mL) ve canlılık oranları (%)

Gün	BRB-ATS		BRB-FCS		BRB-İNS		TYM-ATS	
	Parazit sayısı	% Canlılık	Parazit sayısı	% Canlılık	Parazit sayısı	% Canlılık	Parazit sayısı	% Canlılık
1	18,10 <sup>4</sup>	100	20,10 <sup>4</sup>	100	24,10 <sup>4</sup>	85,7	36,10 <sup>4</sup>	100
2	6,10 <sup>4</sup>	75	4,10 <sup>4</sup>	66,7	2,10 <sup>4</sup>	50	56,10 <sup>4</sup>	100
3	0	0	0	0	0	0	70,10 <sup>4</sup>	52,2
4	0	0	0	0	0	0	20,10 <sup>4</sup>	13,2
5	0	0	0	0	0	0	6,10 <sup>4</sup>	7,5
6	0	0	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0	0	0
8	0	0	0	0	0	0	0	0
9	0	0	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0	0	0

BRB: Brucella broth besiyeri, FCS: Fetal sığır serumu, ATS: At serumu, İNS: İnsan serumu

**Grafik 4a.** BRB besiyerlerindeki parazit sayısının günlere göre değişimi

BRB: Brucella broth besiyeri, FCS: Fetal sığır serumu, ATS: At serumu, İNS: İnsan serumu

şu ile denenmiştir. Besiyerlerinin etkinliğinin *T. vaginalis*'in klinik örnekten ilk izolasyonunda da denenmesi çok daha anlamlı olacaktır. Bir sonraki süreçte bu besiyerlerinin klinik örnekten *T. vaginalis* izolasyonunda denenmesi düşünülmektedir.

## SONUÇ

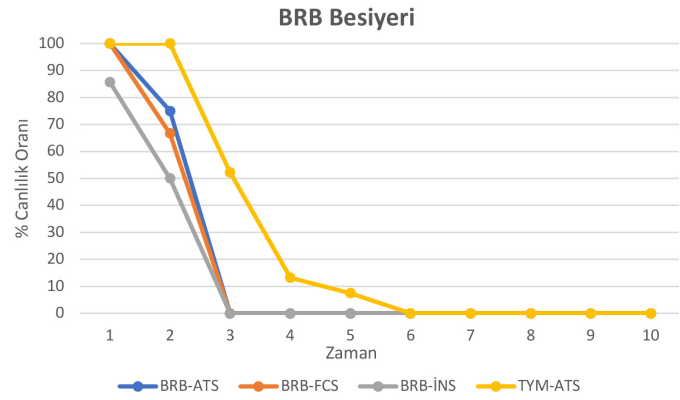
Denenen THIO, TSB ve BHI besiyerlerinde *T. vaginalis*'in üreme potansiyelinin TYM besiyeri ile kıyaslanabilir olduğu görülmüştür. Ayrıca, bu besiyerlerinde *T. vaginalis*'in daha yavaş ürettiği ve canlılığını uzun süre koruduğu tespit edilmiştir. Bu açıdan TYM besiyerinden daha avantajlı olan THIO, TSB ve BHI besiyerleri, rutin mikrobiyoloji laboratuvarında sıklıkla bulunabilmekte ve *T. vaginalis*'in kültür yönteminin uygulanabilir olmasına da imkan sağlayabileceği düşünülmektedir.

### \*Etik

**Etik Kurul Onayı:** Gerekli değildir.

**Hasta Onayı:** Gerekli değildir.

**Hakem Değerlendirmesi:** Editörler kurulu tarafından değerlendirilmiştir.

**Grafik 4b.** BRB besiyerlerindeki parazit canlılığının günlere göre değişimi

BRB: Brucella broth besiyeri, FCS: Fetal sığır serumu, ATS: At serumu, İNS: İnsan serumu

### \* Yazarlık Katkıları

Konsept: Y.Ö., M.Ü., Dizayn: Y.Ö., Veri Toplama veya İşleme: Y.Ö., U.Y., G.Ü., A.Ö., M.Ü., Analiz veya Yorumlama: Y.Ö., U.Y., G.Ü., A.Ö., M.Ü., Literatür Arama: Y.Ö., U.Y., G.Ü., A.Ö., M.Ü., Yazan: Y.Ö.

**Çıkar Çatışması:** Yazarlar tarafından çıkar çatışması bildirilmemiştir.

**Finansal Destek:** Yazarlar tarafından finansal destek alınmadığı bildirilmiştir.

## KAYNAKLAR

- Yereli K, Balcıoğlu İC, Değerli K, Sungurtekin Ü, Kilimcioğlu AA, Daldal N, et al. Vajinal akıntılı kadınlarda *Trichomonas vaginalis* insidansının ve tek doz seknidazol sağaltımının değerlendirilmesi. Türkiye Parazit Derg 1997; 21: 141-4.
- Rowley J, Vander Hoorn S, Korenromp E, Low N, Unemo M, Abu-Raddad LJ, et al. *Chlamydia, gonorrhoea, trichomoniasis and syphilis: global prevalence and incidence estimates, 2016*. Bull World Health Organ 2019; 97: 548-62P.
- Ertabaklar H, Ertuğ S, Kafkas S, Odabaşı AR, Karataş E. Vajinal akıntılı olgularda *Trichomonas vaginalis* araştırılması. Türkiye Parazit Derg 2004; 28: 181-4.

4. Krieger JN. Consider diagnosis and treatment of trichomoniasis in men. *Sex Transm Dis* 2000; 27: 241-2.
5. Fichorova RN. Impact of *T. vaginalis* infection on innate immune responses and reproductive outcome. *J Reprod Immunol* 2009; 83: 185-9.
6. Laga M, Manoka A, Kivuvu M, Malele B, Tuliza M, Nzila N, et al. Non-ulcerative sexually transmitted diseases as risk factors for HIV-1 transmission in women: results from a cohort study. *AIDS* 1993; 7: 95-102.
7. Garber GE. The Laboratory Diagnosis of *Trichomonas vaginalis*. *Can J Infect Dis Med Microbiol* 2005; 16: 35-8.
8. Patil MJ, Nagamoti JM, Metgud SC. Diagnosis of *Trichomonas Vaginalis* from Vaginal Specimens by Wet Mount Microscopy, In Pouch TV Culture System, and PCR. *J Glob Infect Dis* 2012; 4: 22-5.
9. Keşli R, Pektaş B, Özdemir M, Günenc O, Coşkun E, Baykan M, et al. 18-45 yaş grubu kadınlarda, *Trichomonas vaginalis* ve diğer mikroorganizmaların vajinal akıntı örneklerinden mikroskopik olarak incelenmesi. *Türkiye Parazitolojisi Dergisi* 2012; 36: 182-4.
10. Afzan MY, Sivanandam S, Kumar GS. Modified Field's staining--a rapid stain for *Trichomonas vaginalis*. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2010; 68: 159-62.
11. Hobbs MM, Seña AC. Modern diagnosis of *Trichomonas vaginalis* infection. *Sex Transm Infect* 2013; 89: 434-8.
12. Mahmoud A, Sherif NA, Abdella R, El-Genedy AR, El Kateb AY, Askalani AN. Prevalence of *Trichomonas vaginalis* infection among Egyptian women using culture and latex agglutination: cross-sectional study. *BMC Womens Health*. 2015; 15: 7.
13. Preethi V, Mandal J, Halder A, Parija SC. Trichomoniasis: An update. *Trop Parasitol* 2011; 1: 73-5.
14. Madico G, Quinn TC, Rompalo A, McKee KT Jr, Gaydos CA. Diagnosis of *Trichomonas vaginalis* infection by PCR using vaginal swab samples. *J Clin Microbiol* 1998; 36: 3205-10.
15. Lawing LF, Hedges SR, Schwebke JR. Detection of trichomonosis in vaginal and urine specimens from women by culture and PCR. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 3585-8.
16. Ertabaklar H, Ertuğ S, Çalışkan SÖ, Malatyalı E, Bozdoğan B. Use of Internal Transcribed Spacer Sequence Polymorphisms as a Method for *Trichomonas vaginalis* Genotyping. *Türkiye Parazitolojisi Dergisi* 2018; 42: 6-10.
17. Swygard H, Seña AC, Hobbs MM, Cohen MS. Trichomoniasis: clinical manifestations, diagnosis and management. *Sex Transm Infect* 2004; 80: 91-5.
18. Ertabaklar H, Caner A, Döşkaya M, Demirtaş LO, Töz SO, Ertuğ S, et al. Trichomoniasis Tanısında Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile Mikroskopi ve Kültür Yöntemlerinin Karşılaştırılması [Comparison of polymerase chain reaction with wet mount and culture methods for the diagnosis of trichomoniasis]. *Türkiye Parazitolojisi Dergisi* 2011; 35: 1-5.
19. Kissinger P. *Trichomonas vaginalis*: a review of epidemiologic, clinical and treatment issues. *BMC Infect Dis* 2015; 15: 307.
20. Piperaki ET, Theodora M, Mendris M, Barbitsa L, Pitiriga V, Antsaklis A, et al. Prevalence of *Trichomonas vaginalis* infection in women attending a major gynaecological hospital in Greece: a cross-sectional study. *J Clin Pathol* 2010; 63: 249-53.
21. Schwebke JR, Hook EW. High rates of *Trichomonas vaginalis* among Men attending a sexually transmitted diseases clinic: implications for screening and urethritis management. *J Infect Dis* 2003; 188: 465-8.
22. Patel SR, Wiese W, Patel SC, Ohl C, Byrd JC, Estrada CA. Systematic review of diagnostic tests for vaginal trichomoniasis. *Infect Dis Obstet Gynecol* 2000; 8: 248-57.
23. Poch F, Levin D, Levin S, Dan M. Modified thioglycolate medium: a simple and reliable means for detection of *Trichomonas vaginalis*. *J Clin Microbiol* 1996; 34: 2630-1.
24. Adiloğlu AK, Önde U, Acar N. *Trichomonas vaginalis* tanısında direkt mikroskopik inceleme, Giemsa, akridin oranj ve iki kültür yönteminin karşılaştırılması. *FLORA* 2000; 5: 61-6.
25. Kilimcioğlu A, Laçın S, Girginkardeşler N, Değerli K, Özbilgin A. Trichomoniasis tanısında direkt mikroskopi ve kültür yöntemlerinden Diamond, Thiogluconat, TYM, CPLM besiyerlerinin karşılaştırılması. *Türkiye Parazitolojisi Dergisi* 1998; 22: 239-42.
26. Morais V, Suarez N. Economic evaluation of *Streptococcus pneumoniae* culture media. *Am J Biochem Biotechnol* 2016; 12: 133-8.
27. Liu Y, Ream A. Gene expression profiling of *Listeria monocytogenes* strain F2365 during growth in ultrahigh-temperature-processed skim milk. *Appl Environ Microbiol* 2008; 74: 6859-66.
28. Clinical and Laboratory Standards Institute. Approved standard: M7-A8. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. 8th ed. CLSI, Wayne, Pa; 2009.