

BESİYERLERİ

**MİKROORGANİZMALARIN
ÜREME DÖNEMLERİ**

**MİKROORGANİZMALARDA
HAREKET MUAYENESİ**

Mikroorganizmalar;

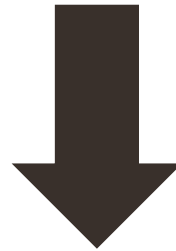
- ⊗ Yaşamlarını sürdürebilmeleri için ortam koşullarını kullanarak gerekli yapıtaşlarını sentezler,
- ⊗ Hücre dışı kimyasal ve fiziksel faktörlerin etkisi altında kendi kimyasal ve fiziksel proseslerini yürüterek yaşamlarını sürdürür,
- ⊗ Üreme ile soylarının devamını sağlarlar.

Üreme = Hücre sayısında artma

Neden Mikrobiyal Üretim?

- Klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında, patojen mikroorganizmaların *izolasyonu ve identifikasyonu* çok önemlidir.
- Tıbbi mikrobiyoloji, farmasötik mikrobiyoloji, gıda teknolojisi, endüstriyel mikrobiyoloji, çevre mikrobiyolojisi ve daha pek çok alanda *araştırmaların* yürütülebilmesi için de mikroorganizmaların uygun koşullarda üretilebilmeleri gerekir.

Enzim sistemlerinin farklılığı nedeniyle



**mikroorganizmaların beslenme ve
üreme için gereksinim duyduğu
fiziksel ve kimyasal koşullar farklılık
gösterir.**

Mikroorganizmalar ihtiyaç duydukları;

@Enerji kaynağına göre;

@Fototrof (ışık enerjisini kullanan)

@Kemotrof (kimyasal madde kullanan)



Patojenler?

@Karbon kaynağına göre;

@Ototrof (inorganik maddelerden organik madde sentezi)

@Heterotrof (hazır organik madde kullanımı)

@Hidrojen kaynağına göre;

@Litotrof (inorganik madde kullanan)

@Organotrof (organik madde kullanan)

şeklinde sınıflandırılırlar.

Mikroorganizmaların üremelerinde etkili olan faktörler

@Isı

- @Psikrofil bakteriler → -8 / +15
- @Mezofil bakteriler → +20 / +45
- @Termofil bakteriler → +50 / +70

@Osmotik basınç

- @Optimal osmotik basınçlı ortam
- @Yüksek osmotik ortam
- @Düşük osmotik ortam

Mikroorganizmaların üremelerinde etkili olan faktörler

@Oksidasyon / redüksiyon potansiyeli

@pH

@Çoğu mikroorganizma pH 6-8 aralığında (nötr pH)

@Mayalar ve küfler gibi bir kısım mikroorganizma ise asidik koşullarda

@ *V. chlorea gibi* bir kısım mikroorganizma ise alkali koşullarda

@Hidrojen verici ve alıcı maddeler

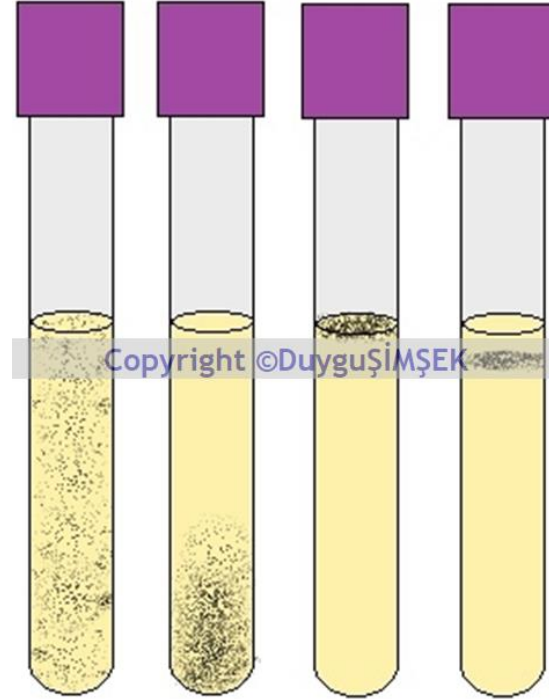
@Karbon kaynağı

@Azot kaynağı

Mikroorganizmaların üremelerinde etkili olan faktörler

@Oksijen

- @Aeroplara →
- @Anaeroplara →
- @Fakültatif anaeroplara →
- @Mikroaerofiller →



@CO₂

- @Havadaki CO₂ veya %5-10 oranında CO₂

Mikroorganizmaların üremelerinde etkili olan faktörler

- @Mineraller

- @Gelişme faktörleri ve vitaminler

- @Su

 - @holofitik beslenme

Mikroorganizmaların üretilme ortamları

- ⊙ Mikroorganizmaların uygun çevre koşullarının sağlanmasıyla *in-vivo* veya *in-vitro* laboratuvar koşullarında üretilmeleri mümkündür.
- ⊙ Yaşamlarını ancak canlı hücre içinde sürdürebilen **virüs**, **riketsiya**, **klamidya** gibi mikroorganizmalar **canlı** ortamlarda üretilebilirler.
- ⊙ **Bakterilerin** ve **mantarların** çoğu ise **cansız** ortamlarda üretilebilirler.

Mikroorganizmaların üretilme ortamları

Canlı ortamlar

- Deney hayvanları
- Embriyonlu yumurta
- Hücre kültürleri
- Doku kültürleri

Cansız ortamlar

- Besiyerleri

Besiyerleri

@ Mikroorganizmaların üretilibilmeleri için gerekli maddeleri içeren, *in-vitro* olarak üretilbildikleri cansız ortamlara **besiyeri** denir.

Besiyeri = besi ortamı = kültür ortamı = vasat

Tüm mikroorganizmalar için uygun, tek bir besiyeri formülü yoktur.

Besiyerlerinin sınıflandırılması

Fiziksel özelliklerine göre

- @ Sıvı
- @ Yarı katı
- @ Katı

Kullanım amaçlarına göre

- @ Genel Üretim
- @ Özel
 - @ Özgül (selektif)
 - @ Ayırt edici
 - @ Seçici (elektif)
 - @ Hem seçici hem ayırt edici
 - @ Zenginleştirici
 - @ Ayıraçlı
 - @ Muhafaza
 - @ Nakil

Kimyasal yapılarına göre

- @ Doğal
- @ Sentetik
- @ Semisentetik

Agar agar;

- @Bazı kırmızı deniz yosunu türlerinden elde edilir.
- @Kıvam vericidir.
 - @İçindeki agaroz/agaropektin oranı kıvamı belirler.
- @Mikroorganizma için besin kaynağı değildir.
- @90 °C üzerinde erir, 45 °C'nin altında katılaşır.
- @pH' ı etkilemez ama düşük pH'larda besiyerinin katılaşması güçleşir.
- @Hacminin 300-500 katı kadar su tutma kapasitesi vardır.

Fiziksel özelliklerine göre besiyerleri

Sıvı

agar içermez

Nutrient Broth
Mueller Hinton Broth

Yarı katı

agar oranı % 0.3 - 0.5

Stuart transport besiyeri
Kirschner yarı-katı besiyeri

Katı

agar oranı % 1.5 – 3

Nutrient Agar
Mueller Hinton Agar

Fiziksel özelliklerine göre besiyerleri

- Ayrıca, hem katı hem de sıvı fazı aynı ortamda taşıyan bifazik besiyerleri de vardır.
 - Castenada besiyeri

Kimyasal yapılarına göre besiyerleri

Doğal

- Et suyu, pepton, süt, yumurta, kan, serum, patates gibi doğal maddelerin yer aldığı besiyerleri
- Kimyasal içerikleri tanımlanmamıştır.

Sentetik

- Tanımlanmış saf kimyasal maddeleri belirli oranlarda içeren, içeriği tam olarak bilinen besiyerleridir.

Semisentetik

- Hem belirli oranda kimyasal madde, hem de çeşitli organik maddeler içerir.
- İçeriği tam olarak bilinmez.

Kullanım amaçlarına göre besiyerleri

@ Genel Üretim Besiyeri

@ Pek çok mikroorganizmanın gelişimi için gerekli besin maddelerini yeterli miktarda içeren,

@ İnhibitör madde bulundurmayan,

@ Laboratuvarlarda rutin olarak kullanılan besiyerleridir.



Kullanım amaçlarına göre besiyerleri

@ Genel Üretim Besiyeri

@ Peptonlu su, buyyon, jeloz gibi temel besinleri içeren temel besiyerleridir.

@ Peptonlu su → pepton + tuz + su

@ Buyyon → pepton + tuz + et suyu

@ Jeloz → buyyon + agar

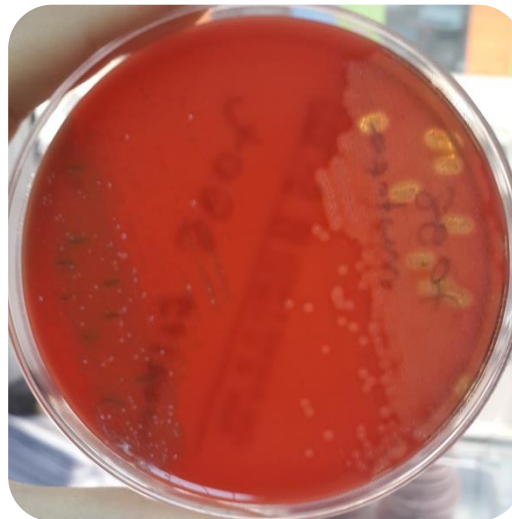
@ Kullanım alanları; ilk izolasyon, sayım, üretim

Kullanım amaçlarına göre besiyerleri

@ Genel Üretim Besiyeri

@ Temel by.'ne kan, serum, yumurta gibi daha besleyici maddeler eklenerek üremeyi artırıcı besiyerleri elde edilebilir.

@ Kanlı agar, çukolata agar, tomato juice agar



Kullanım amaçlarına göre besiyerleri

@Özel Üretim Besiyerleri

- @Üremede güçlük gösteren bazı mikroorganizmaların üretilmesi, identifikasyon, saf kültür eldesi, fiziko-kimyasal etkinliklerin incelenmesi gibi amaçlarla kullanılır.
- @İndikatörler, üremeyi indükleyici veya inhibe edici bazı özel maddeler içerebilir.

Kullanım amaçlarına göre besiyerleri

@Özel Üretim Besiyerleri

a) Özgül (selektif) besiyerleri: Yalnızca bir türün üretimi için kullanılır. Türe özgüdür.

@ Löwenstein Jensen besiyeri → *Mycobacterium tuberculosis*

Kullanım amaçlarına göre besiyerleri

Özel Üretim Besiyerleri

b) Seçici besiyerleri: Bir karışık kültürden alınan örnekteki istenmeyen mikroorganizma gruplarının üremesini inhibe ederken, istenilen mikroorganizmanın üremesine izin veren maddelerle hazırlanan besiyeridir.

• Bu özelliği boyalar, antibiyotikler vb ile sağlanır.

• SS Agar → *Salmonella* ve *Shigella* spp.

• Selenit F → *Salmonella* spp



Kullanım amaçlarına göre besiyerleri

@Özel Üretim Besiyerleri

c) Ayırt edici besiyeri: Mikroorganizmanın belirli bir besin maddesini kullanıp kullanmadığını, metabolizması sonucu ortaya çıkan ürünlerini gösteren besiyeridir.

@Çeşitli indikatör maddeler içerir.

@Endo Agar → Laktoz (+) ve Laktoz (-)
Enterobacteriaceae ayrımı

Kullanım amaçlarına göre besiyerleri

•Özel Üretim Besiyerleri

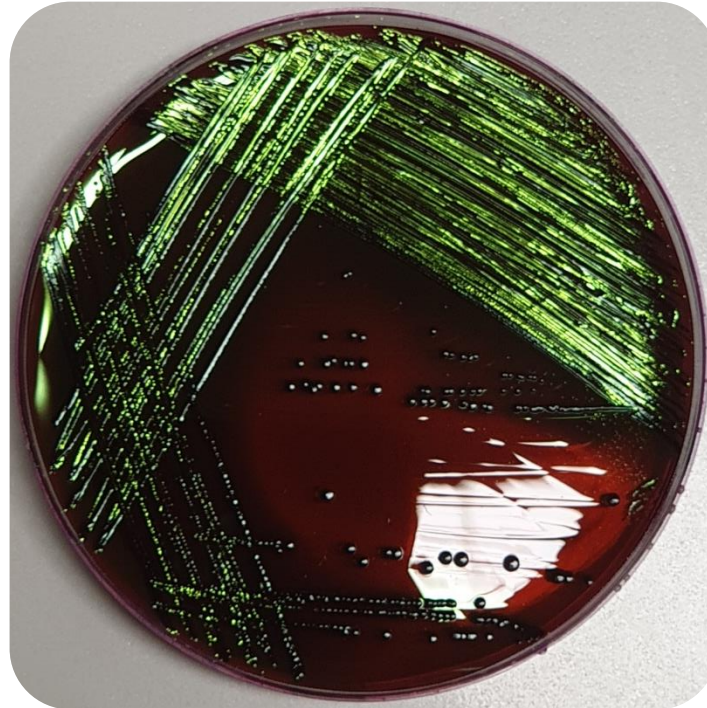
d) Hem seçici hem ayırt edici besiyeri: Hem bir grup mikroorganizmanın üremesine izin verip, diğer grubun üremesini inhibe ederek **seçicilik**; hem de üreyen mikroorganizmaların biyokimyasal karakterizasyonuna göre farklı özelliklerini ortaya koyarak **ayırt edicilik** yapar.

Kullanım amaçlarına göre besiyerleri

@Özel Üretim Besiyerleri

d) Hem seçici hem ayırt edici besiyeri

@Eosin Methylen Blue Agar → Gram (-) bakteriler için seçici, *E.coli* ve *Klebsiella* arasında ayırd edici



Kullanım amaçlarına göre besiyerleri

@Özel Üretim Besiyerleri

e) Ayıraçlı besiyeri: Üretilen mikroorganizmanın biyokimyasal karakterine göre çeşitli reaksiyonların oluşumunu sağlayan besiyeridir.

@Metabolizma sonucu indikatörün renk değişimi ile sonuç okunur.

- @ Simmons Citrate Agar besiyeri → Sitrat kullanımı
- @ Clark-Lubs besiyeri → Glikoz fermantasyonu (+) veya (-)



Kullanım amaçlarına göre besiyerleri

Özel Üretim Besiyerleri

f) Zenginleştirici besiyeri: Karışık kültürde istenilen mikroorganizmanın sayısı az ise, çeşitli maddelerin ilavesiyle onu çoğaltan, diğerlerinin daha az miktarda üremesine neden olan besiyeridir.

Selenit F besiyeri → *Salmonella spp.*

Alkali-peptonlu su → *Vibrio cholera*

Kullanım amaçlarına göre besiyerleri

@Özel Üretim Besiyerleri

g) Muhafaza besiyeri: İzole edilen mikroorganizmaların buzdolabında $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ' de veya $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ ' de uzun süre saklanabilmesi için kullanılan besiyeridir.

@Gliserol, yağsız süt gibi maddeleri belli oranlarda içeren ortamlardır.

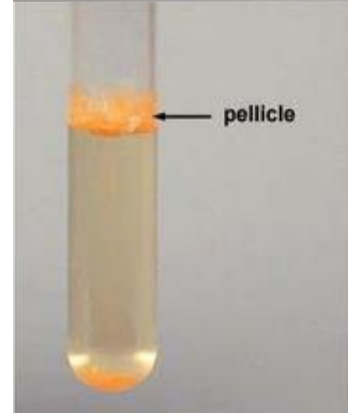
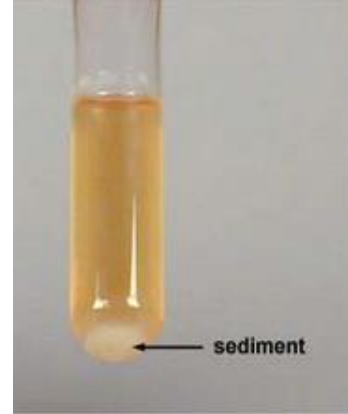
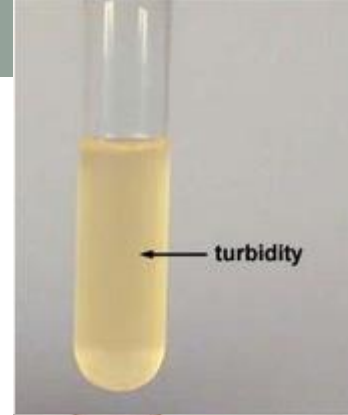
Kullanım amaçlarına göre besiyerleri

@Özel Üretim Besiyerleri

h) Nakil besiyeri: Örneklerin alındıkları ortamdan laboratuvara getirip kültürü yapılana kadar taşındıkları besiyeridir.

Kültürün görünümü;

- @ Sıvı besiyerlerinde;
 - @ homojen bulanıklık
 - @ granüllü üreme
 - @ dipte çöküntü
 - @ yüzeyde zar
- @ Katı besiyerlerinde;
 - @ koloni



Koloni tipleri

@Koloninin büyüklüğü, şekli, rengi, kokusu, yapısı, görünümü bakterinin türüne göre değişiklik gösterir.



Koloni tipleri

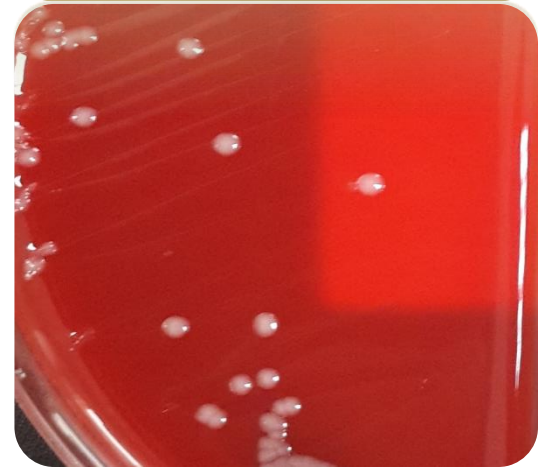
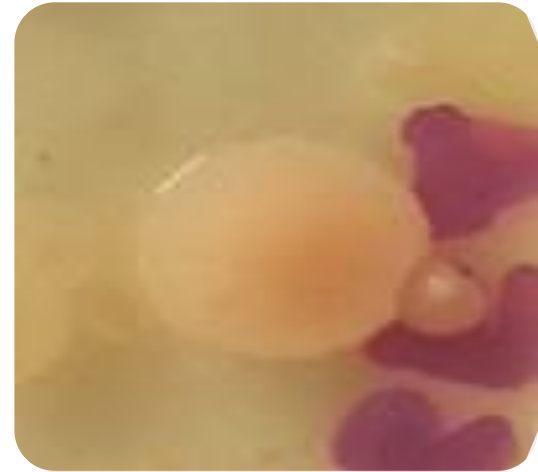
@**S** (*smooth*) tipi koloni:

@**R** (*rough*) tipi koloni:

@**M** (*mucooid*) tipi koloni:

@**L** tipi koloni:

M → S → R

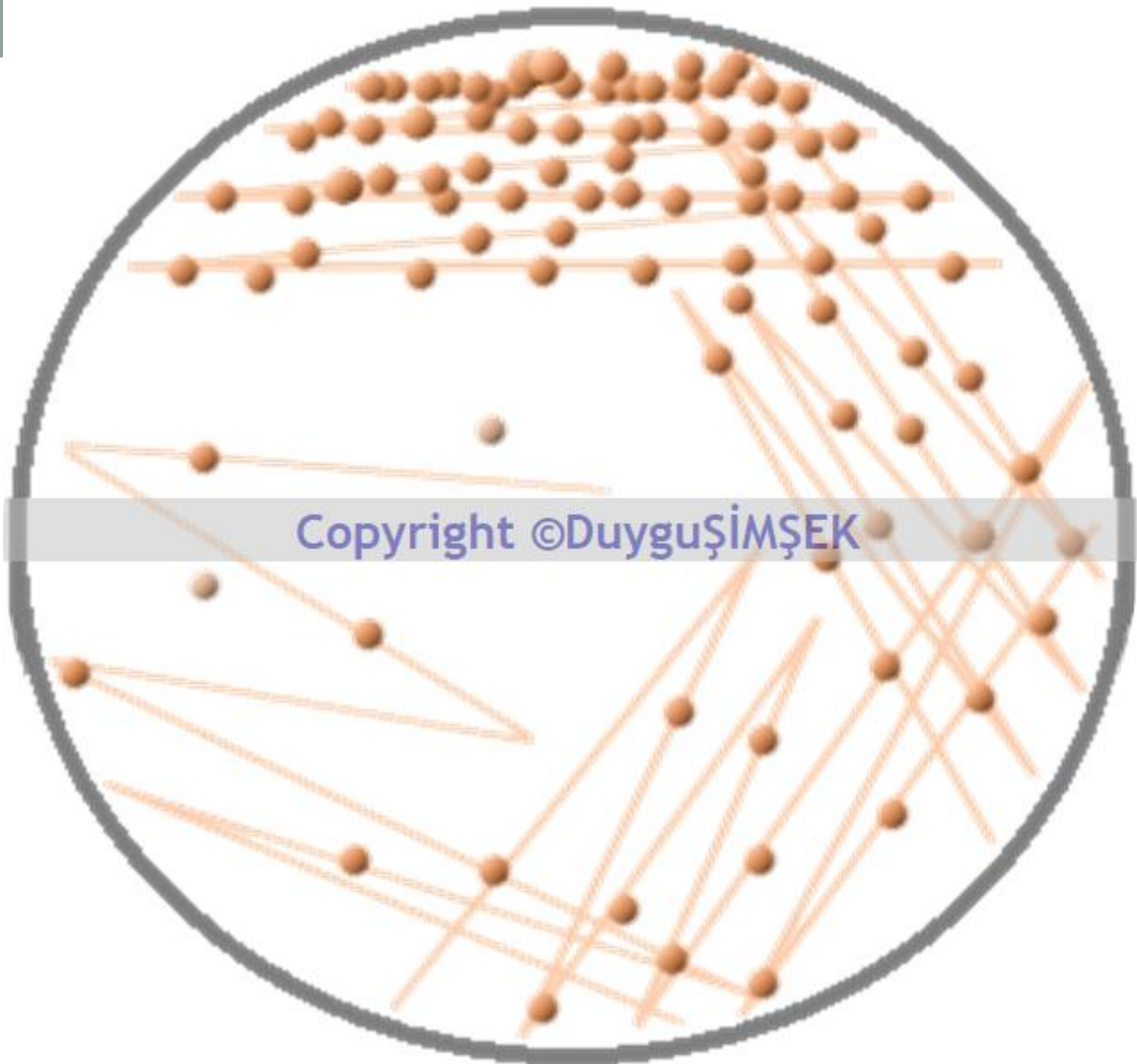


Mikroorganizma üretiminde bazı terimler

- @ Mikroorganizmaların üretilmesi → **kültür yapmak**
- @ Üretilen mikroorganizmalar → **kültür**
- @ Tek bir tür mikroorganizma kültürü → **saf kültür**
- @ Besiyerine ekimi yapılan örnek → **inokulum**
- @ Besiyerine ekim yapma → **inokülasyon**

Mikroorganizma üretiminde bazı terimler

@Ekim sahasında veya besiyerinde mevcut mikroorganizmalar dışında üreyen diğer mikroorganizmalara **kontaminant**, bu olaya da **kontaminasyon** denir.



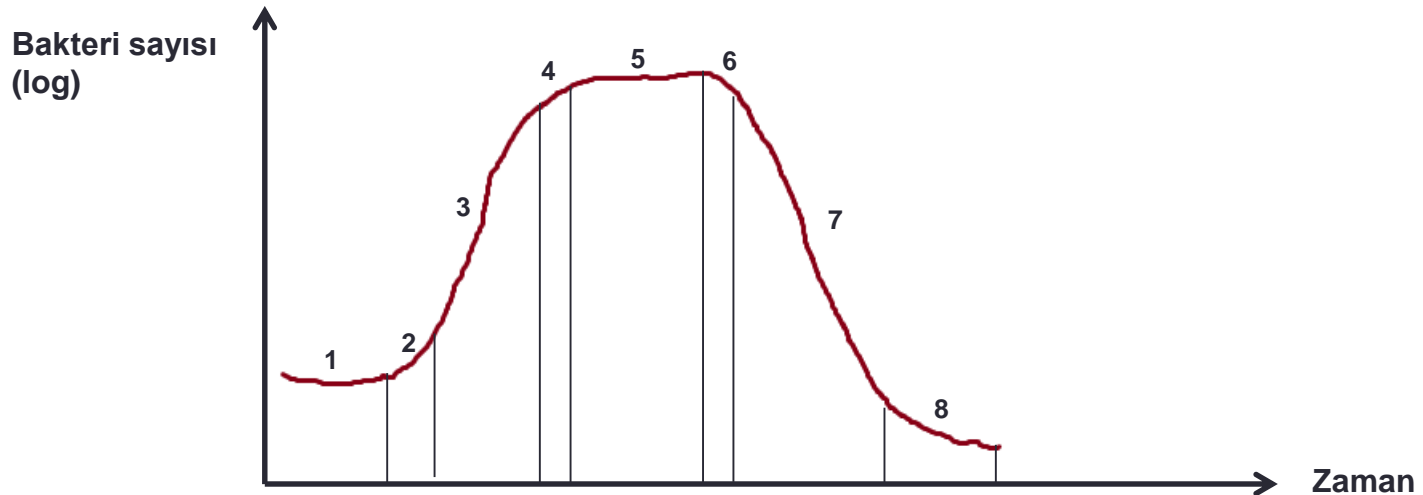
Copyright ©DuyguŞİMŞEK

Mikroorganizmaların üreme dönemleri

- Üreme sırasında bakterilerin **bölünme hızı** (*jenerasyon zamanı*);
- *bakterinin türüne ve*
- *ortam koşullarına* bağlıdır.

Mikroorganizmaların üreme dönemleri

- Bir sıvı besiyerine belirli sayıda mikroorganizma ekilip, inkübasyona bırakıldığında;
- Düzenli aralıklarla örnek alınıp incelendiğinde, üremenin zamana bağlı olarak farklı dönemlerinin olduğu gözlenir.



Mikroorganizmaların üreme dönemleri

1. Gizli (latent) dönem:

- ④ *Ortama alışma dönemi*
- ④ *Çoğalma yok, hatta bir kısmı ölür*
- ④ *Hacmi büyür, enzimler ve ara metabolitler sentezlenir*
- ④ *Süresi ekilen mikroorganizmanın cinsine, sayısına, yaşına bağlı*

2. Üremenin hızlandığı dönem:

- ④ *Üremeye başlama dönemi*
- ④ *Hücre büyüklüğü kendi cinsine ait maksimum boyutta*

Mikroorganizmaların üreme dönemleri

3. Logaritmik üreme dönemi:

- ⌚ *En kısa sürede en hızlı şekilde eksponansiyel üreme dönemi*

4. Üreme hızının azalma dönemi:

- ⌚ *Besin azalır, toksik maddeler oluşmaya başlar*
- ⌚ *Aerobik koşullarda oksijen miktarı azalır*
- ⌚ *Bölünme hızı azalır*

5. Çoğalmanın durma dönemi:

- ⌚ *Çoğalma devam eder*
- ⌚ *Diğer taraftan bakteri ölümü, canlı sayısını dengede tutar*

Mikroorganizmaların üreme dönemleri

6. Bakterilerin azalma dönemi:

- ☉ *Ölen hücre sayısı, bölünen hücre sayısından fazla*

7. Logaritmik azalma dönemi:

- ☉ *Koşullar iyice uygunsuz hale gelir*
- ☉ *Hızla ölüm başlar*
- ☉ *Sayıda logaritmik azalma*

8. Yeniden düzenlenme dönemi:

- ☉ *Sayı çok az*
- ☉ *Ölen ve bölünen sayısı düşük düzeyde*
- ☉ *Canlı kalanlar, cinsine göre haftalarca veya aylarca canlı kalabilir*
- ☉ *Sporlanan türler, spor oluşturur*

Mikroorganizmalarda hareket

- 1. Ameboid Hareket:** Amiplerde görülür. Mikroorganizma yalancı ayaklar (pseudopod) yardımıyla hareket eder.
- 2. Kayma Hareketi:** Mavi-Yeşil algler ve alg benzeri bazı bakterilerin, nemli katı besiyerlerinde kıvrılarak yaptıkları harekettir.
- 3. Spiral Hareket:** Vücutları sarmal şekilde bükülmüş olan mikroorganizmaların nemli besiyerleri üzerinde aksiyal filamentleri yardımıyla burğu şeklindeki hareketidir.
- 4. Koloni Hareketi:** Bazı mikroorganizmaların kolonileri nemli katı besiyerinde çok yavaş kayma hareketi yapar.

Mikroorganizmalarda hareket

5. Flagella Hareketi: Flagellaya sahip mikroorganizmalar bu hareketle yer değiştirir. **Aktif harekettir.** ATP'den enerji sağlanarak yapılır.

(*taksis*)

6. Brownian Hareket: Hareket organeline sahip olmayan bakterilerin buldukları ortamda titreşim, dönme,, sallanma gibi, su moleküllerinin çarpmasıyla hareket etmeleridir. **Pasif harekettir.**

Mikroorganizmalarda hareket muayenesi

- @Asılı Damla ile Muayene
- @Lam-Lamel Arasında Muayene
- @Yarı Katı Besiyerinde Muayene
- @Katı Besiyerinde Muayene

Mikroorganizmalarda hareket muayenesi

Yöntem: Lam-lamel arasında muayene

Brownian hareket →

Flagella hareketi →

REFERANSLAR

- Diagnostic Microbiology 4th edth. Bailey&Scott. 1974, 414 p.
- Klinik mikrobiyolojik Tanı. Prof.Dr. Hakkı Bilgehan. 1992, 680 p.
- Principles of Microbiology, 2th edth. Ronald M. Atlas.1997, 1298 p.
- Temel Mikrobiyoloji ve Bağışıklık Bilimi, Prof.Dr.Hakkı Bilgehan, 2000.
- Mikrobiyoloji Pratik Kitabı, Editör A. Tevfik Cengiz, 2001.