

GRAM NEGATİF BAKTERİLER İÇİN BİYOKİMYASAL TESTLER

KARBONHİDRAT FERMENTASYON TESTLERİ

- Bazı bakteriler sahip oldukları enzimler ile karbonhidratları parçalayabilir.
- Bu metabolizma, besiyerindeki indikatörlerin renk değiştirmesi ile anlaşılır.
- Test iki řekilde yapılabilir.

1.SIVI BESİYERİNDE

- Glikoz, galaktoz, laktoz, maltoz, fruktoz, sukroz, mannoz, vb. şekerler testte kullanılır.
- Test edilecek şekeri içeren 5 ml sıvı besiyerine 0,1 ml bakteri kùltürü ve 3-4 damla brom thimol mavisi damlatılır.
- 37°C de 24-48 s inkübasyon sonunda şekerlerin kullanılması değerlendirilir.
- Renk deęiřimi varsa reaksiyon (+), yoksa (-)
- Tüpte gaz kabarcığı varsa gaz (+)

2.KATI BESİYERİNDE

TSI (Triple sugar iron) AGAR

- Özellikle *Enterobacteriaceae* ailesi üyelerini tanımlamak amacıyla kullanılır.
- Besiyerinde üstten alta doğru laktoz, sukroz ve glikoz bulunur.
- Ayrıca demir içerir.

YAPILIŞI

- İğne uçlu öze ile besiyerine ekim yapılır.
- 37°C de 24 s inkübasyona bırakılır.
- Besiyeri sarı renk almışsa o kısımdaki şeker (+)
- Besiyeri aynı renkte kalmışsa o kısımdaki şeker (-)
- Besiyeri siyah renk almışsa bakteri H₂S (+)
- Tüpte boşluk varsa bakteri gaz (+)

McCONKEY AGAR

- Bakterilerin laktozu fermente edip edemediğini tespit etmek için kullanılır.
- Besiyerinde, şeker olarak laktoz ve indikatör olarak nötral red bulunur.

YAPILIŞI

MC agar besiyerine ekim yapılır.

37°C de 24 s inkübasyona bırakılır.

Besiyeri pembe renk almışsa laktoz (+),

Besiyeri renksiz ise laktoz (-)

E.coli MC (+)

Salmonella MC (-)

Eosin Methylen Blue Lactose Sucrose (EMB) Agar

- Bakterilerin laktozu fermente edip edemediğini tespit etmek için kullanılır.
- Besiyerinde şeker olarak laktoz ve indikatör olarak eosin metilen blue boyası bulunur.

YAPILIŞI

EMB agar besiyerine ekim yapılır.

37°C de 24 s inkübasyona bırakılır.

Metalik yeşil parıltı varsa laktoz (+)

Renksiz koloniler varsa laktoz (-)

E.coli EMB (+)

Salmonella EMB (-)

İNDOL TESTİ

- Bakterilerin triptofan aminoasitini parçalayıp parçalayamadığını tespit etmek için kullanılır.
- Triptofan parçalanınca indol halkası açığa çıkar.

YAPILIŞI

Bakteri, triptofan içeren sıvı besiyerine ekilir.

37°C de 24 s inkübasyon sonunda üzerine kovaks ayıracı damlatılır.

Kırmızı halka oluşursa bakteri indol (+)

Sarı halka oluşursa bakteri indol (-)

E. coli indol (+)

Salmonella indol (-)

OKSİDASYON/FERMENTASYON (O/F) TESTİ

- Bir bakterinin oksidatif yada fermentatif olduğunun tespiti için yapılır.

YAPILIŞI

Yarı katı **Hugh Leifson** besiyeri kullanılır.

Test için iki ayrı tüpe iğne uçlu öze ile ekim yapılır.

Tüplerden birinin üzeri sıvı parafin ile kapatılır. Böylece kültürün O₂ ile temas engellenir.

37°C'de 24-48 s inkübe edilir.

Besiyeri yeşil renkten sarıya dönmüş ise glukoz (+).

Her iki tüpte sarı renk oluşmuş ise **FERMENTATİF**

O₂ li tüp sarı, diğeri yeşil ise **OKSİDATİF**

İki tüpün renginde de değişme yoksa **NONFERMENTATİF**

ÜREAZ TESTİ

- Bakterilerdeki üreaz enzimi varlığını tespit etmek için yapılır.
- Bazı bakteriler üreaz enzimi ile üreyi, amonyak ve karbondioksit'e parçalarlar.
- Oluşan amonyak ortamın pH'sını yükseltir, besiyeri pembeye dönüşür.

- YAPILIŞ

Üreli besiyerine bakteri ekilir ve 37°C'de inkübasyona bırakılır.

Üre parçalanmış ise pembe renk oluşur dönüşür, üreaz (+)

Üre parçalanmamış ise ortamın rengi sarı kalır, üreaz (-)

P. vulgaris üreaz (+)

E. coli üreaz(-)